

Bibliographic Information

Arylamine derivatives and their use as anti-telomerase agent. Mailliet, Patrick; Riou, Jean-Francois; Mergny, Jean-Louis; Laoui, Abdelazize; Lavelle, Francois; Petitgenet, Odile. (Aventis Pharma S.A., Fr.). PCT Int. Appl. (2001), 66 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2001040218 A1 20010607 Designated States W: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW, AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM. Designated States RW: AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR, BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, ML, MR, NE, SN, TD, TG. Patent written in French. Application: WO 2000-FR3310 20001127. Priority: FR 99-15031 19991129; FR 2000-10561 20000811. CAN 135:33495 AN 2001:416931 CAPLUS (Copyright 2004 ACS on SciFinder (R))

Patent Family Information

<u>Patent No.</u>	<u>Kind</u>	<u>Date</u>	<u>Application No.</u>	<u>Date</u>
WO 2001040218	A1	20010607	WO 2000-FR3310	20001127
W: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW, AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM				
RW: GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW, AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR, BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG				
FR 2801588	A1	20010601	FR 1999-15031	19991129
FR 2801588	B1	20020301		
BR 2000015992	A	20020806	BR 2000-15992	20001127
EP 1244650	A1	20021002	EP 2000-985339	20001127
EP 1244650	B1	20030625		
R: AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LI, LU, NL, SE, MC, PT, IE, SI, LT, LV, FI, RO, MK, CY, AL, TR				
JP 2003515604	T2	20030507	JP 2001-541902	20001127
EE 200200263	A	20030616	EE 2002-263	20001127
AT 243692	E	20030715	AT 2000-985339	20001127
PT 1244650	T	20031128	PT 2000-985339	20001127
US 6645964	B1	20031111	US 2000-722361	20001128
NO 2002002528	A	20020528	NO 2002-2528	20020528
BG 106753	A	20030228	BG 2002-106753	20020529
US 2004053966	A1	20040318	US 2003-658394	20030910

Priority Application

FR 1999-15031	A	19991129
FR 2000-10561	A	20000811
WO 2000-FR3310	W	20001127

US 2000-176632P	P	20000119
US 2000-218059P	P	20000713
US 2000-722361	A3	20001128

Abstract

Nitrogen heterocycles, esp. diaminotriazines, were prepd. for use as telomerase inhibitors and anticancer agents. Thus, 2-amino-4,6-dichloro-1,3,5-triazine was treated with 1-methyl-4,6-quinaldinium chloride hydrochloride to give 2-amino-4,6-bis(1-methyl-4-amino-6-quinaldinio)amino-1,3,5-triazine dichloride hydrochloride which was converted to its free base. The free base had a telomerase-inhibiting IC₅₀ of 0.25 μ M and a cytotoxic IC₅₀ of 0.59-1.9 μ M.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
7 juin 2001 (07.06.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/40218 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷:
C07D 403/12, 251/18, 251/52,
251/54, A61K 31/53, 31/506, A61P 35/00

(74) Mandataire: **LE PENNEC, Magali**; Aventis Pharma
S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron,
F-92165 Antony Cedex (FR).

(21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/03310

(81) États désignés (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,
TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Date de dépôt international:
27 novembre 2000 (27.11.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
99/15031 29 novembre 1999 (29.11.1999) FR
00/10561 11 août 2000 (11.08.2000) FR

(84) États désignés (*régional*): brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant: **AVENTIS PHARMA S.A.** [FR/FR]; 20, av-
enue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).

Publiée:

- Avec rapport de recherche internationale.
- Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont
reçues.

(72) Inventeurs: **MAILLIET, Patrick**; 87, rue Dalayrac,
F-94120 Fontenay sous Bois (FR). **RIOU, Jean-François**;
8, avenue du Général Leclerc, F-75014 Paris (FR).
MERGNY, Jean-Louis; 25, rue Delescluze, F-94800
Villejuif (FR). **LAOUI, Abdelazize**; 80, rue de Coulmiers,
F-94130 Nogent sur Marne (FR). **LAVELLE, François**;
190, avenue Daumesnil, F-75012 Paris (FR). **PETIT-
GENET, Odile**; 31, rue du Moulin Vert, F-75014 Paris
(FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: **ARYLAMINE DERIVATIVES AND THEIR USE AS ANTI-TELOMERASE AGENT**

(54) Titre: **DERIVES ARYLAMINES ET LEUR APPLICATION COMME AGENT ANTITELOMERASE**

(57) Abstract: The invention concerns cancer therapy and novel anti-cancer agents having a very particular mechanism. The inven-
tion also concerns novel chemical compounds and their therapeutic use in humans.

(57) Abrégé: La présente invention est relative à la thérapie du cancer et concerne de nouveaux agents anticancéreux ayant un
mécanisme d'action bien particulier. Elle concerne aussi de nouveaux composés chimiques ainsi que leur application thérapeutique
chez l'homme.

WO 01/40218 A1

DERIVES ARYLAMINES ET LEUR APPLICATION COMME AGENT ANTITELOMERASE

La présente invention est relative à la thérapie du cancer et concerne de nouveaux agent anticancéreux ayant un mécanisme d'action bien particulier. Elle concerne aussi de nouveaux composés chimiques ainsi que leur application thérapeutique chez l'homme.

La présente invention concerne l'utilisation de nouveaux composés chimiques non nucléotidiques qui interagissent avec des structures spécifiques de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ces nouveaux composés sont constitués d'un agent répartiteur lié à deux groupes aminoaromatiques. Ces nouveaux composés sont utiles dans le traitement des cancers et agissent en particulier en tant qu'agents inhibiteurs de la télomérase. Ils sont particulièrement utiles pour stabiliser l'ADN en structure G-quadruplexe (tétrades de guanines). L'application thérapeutique de l'inhibition de la télomérase via la stabilisation de ces G-quadruplexes est l'arrêt de la mitose cellulaire et la mort des cellules à division rapide telles que les cellules cancéreuses et éventuellement l'induction de la sénescence des cellules cancéreuses.

Les composés de la présente invention présentent l'avantage du point de vue thérapeutique de bloquer la télomérase. Du point de vue biologique, la télomérase permet l'ajout de séquences d'ADN répétées du type T T A G G G, dites séquences télomériques, à l'extrémité du télomère, lors de la division cellulaire. Par cette action la télomérase rend la cellule immortelle. En effet, en l'absence de cette activité enzymatique, la cellule perd à chaque division 100 à 150 bases, ce qui la rend rapidement senescente. Lors de l'apparition de cellules cancéreuses à division rapide, il est apparu que ces cellules présentaient des télomères maintenus à une longueur stable au cours de la division cellulaire. Dans ces cellules cancéreuses il est apparu que la télomérase était fortement activée et qu'elle permettait l'addition de motifs répétés de séquences télomériques à la fin du télomère et permettait donc la conservation de la longueur du télomère dans les cellules cancéreuses. Il est apparu depuis quelques temps que plus de 85 % des cellules cancéreuses présentaient des tests positifs à la présence

de télomérase alors que les cellules somatiques ne présentent pas cette caractéristique.

Ainsi la télomérase est une cible très convoitée pour traiter les cellules cancéreuses. La première approche évidente pour bloquer la télomérase a été l'utilisation de structures nucléotidiques (Chen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(7), 2635-2639). Parmi les composés non nucléotidiques qui ont été utilisées dans l'art antérieur on peut citer les diaminoanthraquinones (Sun et al. J. Med. Chem. 40(14), 2113-6) ou les diethyloxadycarbocyanines (Wheelhouse R. T. Et al. J. Am. Chem. Soc. 1998(120) 3261-2).

Le brevet WO 99/40087 décrit l'utilisation de composés qui interagissent avec les structures G-quadruplexes qui sont des composés perylènes et des carbocyanines contenant au moins sept cycles dont deux hétérocycles.

Il est apparu de façon tout à fait surprenante que des structures simples permettaient d'obtenir un résultat au moins équivalent avec des structures beaucoup moins compliquées du point de vue chimique. Les composés de la présente invention qui répondent à l'objectif visé c'est-à-dire qui fixent la structure G-quadruplex et par ce fait présentent une activité inhibitrice des télomérases répondent à la formule générale suivante :

cycle aromatique azoté - NR_3 - répartiteur - NR'_3 - cycle aromatique
dans laquelle

- le cycle aromatique azoté, représente :

- ◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins
 - un groupe $N(Ra)(Rb)$ dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte en C1-C4 ou
- ◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
- ◇ une benzamidine ou

- ◇ une pyridine
- le cycle aromatique représente
 - ◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents
 - 5 représentent l'hydrogène ou un radical alkyle et/ou alkoxy à chaîne courte en C1-C4 et/ou
 - ◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - ◇ une benzamidine ou
 - 10 ◇ une pyridine ou
 - ◇ un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou
 - 15 plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4 ou
 - ◇ un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique
 - 20 comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4
- R3 et R'3, identiques ou différents, représentent
- 25 indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4
- le répartiteur représente :
 - ◇ un groupe triazine éventuellement substitué par un
 - 30 radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, un radical thio, oxy ou amino eux même éventuellement substitués par un ou plusieurs chaînes alkyle à chaîne courte

contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un atome d'halogène ou

◇ un groupe carbonyle ou

◇ un groupe $C(=NH)-NH-C(=NH)$ ou

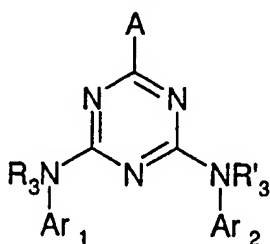
5 ◇ un groupe alkylédiyle contenant 3 à 7 atomes de carbone ou

◇ un groupe diazine éventuellement substitué par les mêmes groupes que la triazine

ou un de ses sels.

10 On entend au sens de la formule ci-dessus par cycle aromatique azoté un hétérocycle comportant au moins un atome d'azote ou un groupe aromatique ne comportant pas d'hétéroatome dans le cycle mais contenant au moins un atome d'azote dans une chaîne hydrocarbonée liée au cycle comme par exemple une chaîne guanidino ou guanyl.

15 On préfère parmi l'ensemble des composés ci-dessus inclus utiliser ceux comportant comme répartiteur un groupe triazine ou diazine. Parmi les groupes diazines on préfère utiliser les pyrimidines. Parmi les triazines on préfère les composés répondant à la formule (I) ci-dessous :



20 dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule NR_1R_2 dans lequel R_1 et R_2 identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

25 • un groupe OR_1 ou SR_1 dans lequel R_1 a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou
ou un groupe trifluorométhyle ou
 - un atome d'hydrogène ou
 - un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le
5 brome ou l'iode
- R³ et R'³, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4.
- Ar₁ et Ar₂ identiques ou différents représentent
1. quand Ar₁ et Ar₂ sont identiques :
- 10 • un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - 15 • un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
 - une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - une benzamidine ou
 - 20 • une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4
2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents
- 25 • Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
 - Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
 - * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou
- 30

5 plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

10 * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

ou un de ses sels.

15 Il est évident que les motifs quinoléines peuvent être substitués par tout autre groupe n'intervenant pas dans l'application visée, ainsi des groupes acridines ou isoquinoléines ou quinazolines ou quinoxalines ou phtalazines ou benzothiazines ou benzoxazines ou phénoxazines ou phénothiazines sont inclus dans la définition des groupes quinoléines.

20 On préfère parmi les composés de formule (I) ci-dessus ceux qui comportent deux hétérocycles choisis parmi les groupes 4-aminoquinolyl, 4-aminoquinolinium ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

En ce qui concerne les groupes A, ils représentent de préférence le radical méthylthio, amino, alkylamino ou dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4 atomes de carbone.

25 On peut citer à titre de composés représentatifs de la formule (I) les composés suivants :

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

30 - le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

- le dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

- le trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine
- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine
- 5 - le trichlorhydrate du dichlorure de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine
- le chlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine
- le trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)
- 10 amino]-triazine
- le trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-(p-amidinoanilino)-triazine,
- le dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine
- le dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-
- 15 6'-quinaldinyl)amino]-triazine
- l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl) amino]-triazine
- le dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldinyl)urée
- le diodure de N¹,N⁵-bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-
- 20 diamine
- le trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldinyl) amino]pyrimidine
- le trichlorhydrate dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'quinaldinyl)biguanide
- le 6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-
- 25 [1,3,5]triazin-2-ylamino]-2-méthyl-quinolin-4-ol
- la N6-[4-(4-diméthylamino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine
- la N6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine

- la N6-[4-(4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-
[1,3,5]triazin-2-yl]-4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-amine

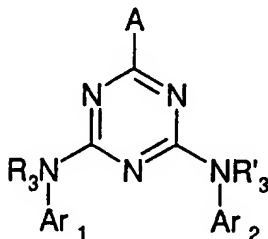
- la N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-
quinaldine-4,6-diamine

5 - la N6-[(6-(4-diméthylamino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-
triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(quinolyl-6-yl-amino)-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-
quinaldine-4,6-diamine

10 On préfère tout particulièrement l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-
diméthylamino-6'-quinaldinyl) amino]-triazine.

Un autre objet de la présente invention concerne les composés de
formule (I) en tant que produits chimiques nouveaux. Il concerne donc les
produits nouveaux répondant à la formule (I) suivante :



15 dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule NR₁R₂ dans lequel R₁ et R₂ identiques ou différents représentent un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

20 • un groupe OR₁ ou SR₁ dans lequel R₁ représente l'hydrogène ou a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un groupe trifluorométhyle ou

- un atome d'hydrogène ou

25 • un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R₃ et R'₃, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁-C₄

- Ar₁ et Ar₂ identiques ou différents représentent

1. quand Ar₁ et Ar₂ sont identiques :

- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins
- 5 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- 10 • une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
- une benzamidine sauf dans le cas où A représente la diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine
- 15 • une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents

- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
- 20 • Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
 - * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou
 - 25 plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4
 - 30 * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition

qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

- 5 ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

En effet le premier de ces deux composés est décrit dans une publication parue sous la référence Indian Journal of Animal Sciences 43(4),
10 pages 226-29 comme agent antitrypanosome pour l'animal et en aucun cas comme agent antitélomérase et le second est aussi décrit comme agent antitrypanosome dans J. Chem. Soc., 1960, 4525

Les composés de formule (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels Ar_1 et Ar_2 représentent un groupe choisi parmi les motifs suivants :
15 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino-quinolyl ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

Les composés de formule générale (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels A représente un groupe amino ou diméthylamino ou plus préférentiellement méthylthio.

20 On préfère tout particulièrement les composés de formule (I) pour lesquels lorsque Ar_1 et Ar_2 sont différents :

1. Ar_1 représente :

- un motif quinoléine substitué par au moins
 - un groupe $N(Ra)(Rb)$ dans lequel Ra et Rb
25 identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme
30 quaternaire ou

- une benzamidine sauf dans le cas où A représente la diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine ou
- une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle

5

2. Ar₂ représente

10

- * un noyau tel que défini ci-dessus mais différent ou
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, méthoxy, cyano, carbonylamino, guanyl, méthylthio, amino, méthylamino, diméthylamino, morpholine, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

15

- * un noyau quinoline, benzimidazole, indole, benzothiophène, benzofurane, benzothiazole, benzoxazole, carbazole, quinazoline, quinoxaline éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

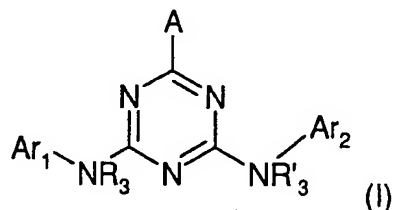
20

ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation des composés de la formule (I) comme produit pharmaceutique à usage humain.

Les procédés de préparation des composés de formule (I)

25



sont décrits ci-après.

Méthode générale 1

Selon un premier procédé de préparation des composés de formule générale (I) dans lesquels Ar_1 et Ar_2 d'une part et R_3 et R'_3 d'autre part sont identiques et définis tels que précédemment et R représente un atome d'halogène tel que chlore ou fluor, une fonction amino, alkylamino ou dialkylamino dont les parties alkyles droites ou ramifiées contiennent de 1 à 4 atomes de carbone, alkyloxy ou alkylthio dont les parties alkyles droites ou ramifiées contiennent de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent être obtenus par amination d'une dihalogénotriazine, très généralement une dichloro-s-triazine, de formule générale (B) dans laquelle A est défini comme ci-dessus par une amine aromatique ou hétéroaromatique de formule générale (C) dans laquelle Ar est défini comme précédemment en opérant selon le schéma 1 :

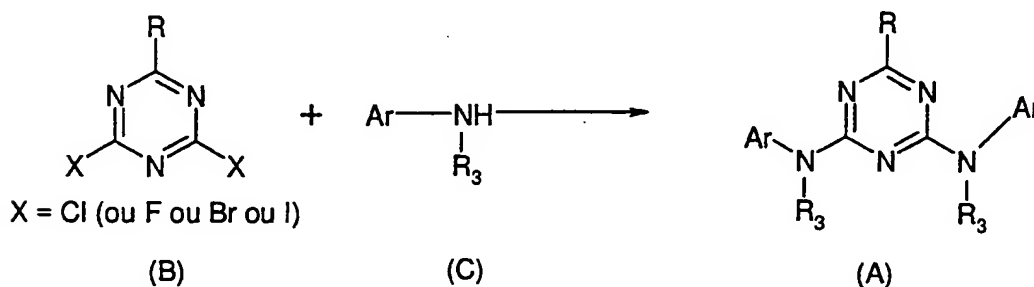


Schéma 1

Dans le cas où A représente un atome d'halogène, il est utile de faire réagir la 2,4,6-trihalogéno-s-triazine correspondante de formule générale (B) avec l'amine aromatique ou hétéroaromatique $ArNHR_3$ de formule générale (C).

On opère généralement en condensant une mole de dihalogéno-s-triazine, ou trihalogéno-s-triazine, avec 2 moles d'amine aromatique ou hétéroaromatique. La réaction a lieu en milieu inerte dans les conditions de la réaction. On peut citer parmi les solvants inertes l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux comme l'éthanol, ou un solvant halogéné tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyle ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. On opère de préférence à une température comprise entre 20°C et le reflux, en présence notamment d'une base organique, telle que la

triéthylamine, ou minérale, telle que la soude ou le carbonate de sodium ou de potassium. Il est également possible de ne pas utiliser de base lors de la réaction d'amination, et d'isoler un chlorhydrate du produit de formule générale (A), dont la base peut ensuite être libérée.

- 5 Les dihalogéno ou trihalogéno-s-triazines de formule générale (B) sont soit commerciales soit connues, et peuvent être obtenues dans les conditions décrites dans la littérature.

- 10 Les amines aromatiques ou hétéroaromatiques de formule générale (C) sont soit connues, soit peuvent être préparées aisément par les méthodes connues de synthèse d'amines aromatiques ou hétéroaromatiques.

- 15 Dans le cas où Ar_1 et Ar_2 sont différents, la triazine de formule générale (A) peut être obtenue par déplacement séquentiel des atomes d'halogène, très généralement des atomes de chlore, des produits de formule générale (B) par les amines Ar_1NHR_3 puis $Ar_2NHR'_3$ de formule générale (C) selon le schéma 2 :

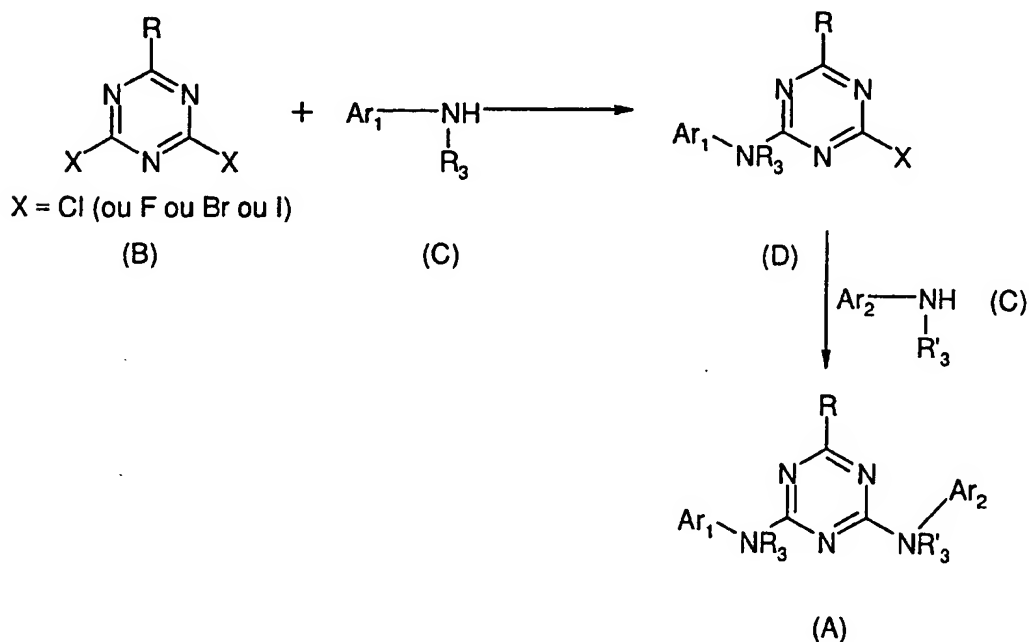


Schéma 2

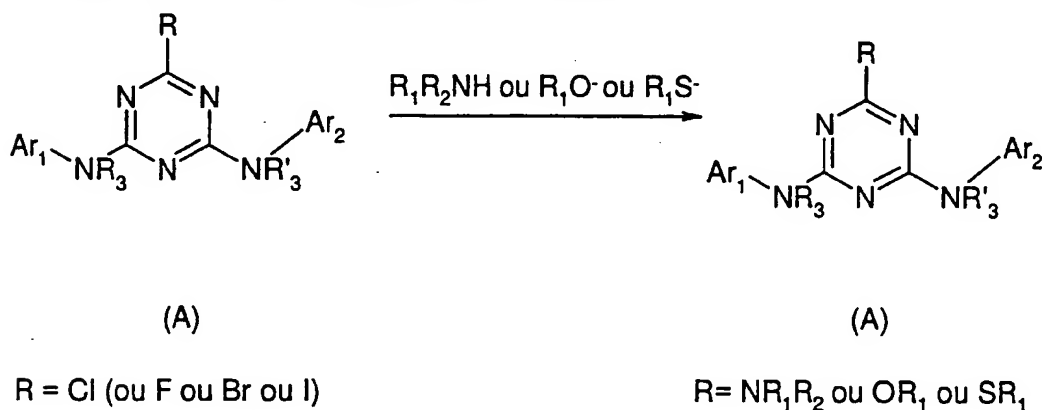
- 20 Généralement on opère avec 1 mole de dihalogéno-s-triazine, ou trihalogéno-s-triazine, et 1 mole d'amine Ar_1NHR_3 . On préfère opérer dans un

solvant inerte tel que l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux, comme l'éthanol, ou un solvant halogéné, tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyle ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. Selon une

- 5 meilleure manière de mettre en oeuvre l'invention on opère à une température comprise entre 20°C et 50°C. Ensuite on ajoute 1 mole d'amine $Ar_2NHR'_3$ au produit de formule générale (D), qui peut être éventuellement isolé. On opère notamment à une température comprise entre 50°C et le reflux.
- 10 Avantageusement, on peut opérer dans les conditions décrites dans J. Fluor. Chem., 1988, 39(1), 117-123.

Méthode générale 2

- Selon une seconde méthode les produits de formule générale (A) dans lesquels Ar_1NHR_3 et $Ar_2NHR'_3$ sont définis tels que précédemment et R
- 15 représente un groupe NR_1R_2 ou OR_1 ou SR_1 peuvent être également préparés par déplacement nucléophile d'un atome d'halogène, généralement un atome de chlore, d'un produit de formule générale (A) dans lequel R représente un atome d'halogène selon le schéma 3 :



20

Schéma 3

- On opère généralement en condensant 1 mole de produit de formule générale (A) dans lequel R représente un atome d'halogène, préférentiellement un atome de chlore, avec 1 mole d'amine R_1R_2NH ou d'alcoolate R_1O^- ou de thioalcoolate R_1S^- . La réaction a lieu en milieu inerte
- 25 dans les conditions de la réaction. On peut citer parmi les solvants inertes

- l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux comme l'éthanol, ou un solvant halogéné tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyle ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. Lorsque le groupe entrant
- 5 représente un groupe R_1R_2NH , on opère de préférence à une température comprise entre $20^{\circ}C$ et le reflux, en présence notamment d'une base organique, telle que la triéthylamine, ou minérale, telle que la soude ou le carbonate de sodium ou de potassium. Il est également possible de ne pas
- 10 utiliser de base lors de la réaction d'amination, et d'isoler un chlorhydrate du produit de formule générale (A), dont la base peut ensuite être libérée. Lorsque le groupe entrant représente un groupe R_1O^- ou R_1S^- on opère préférentiellement avec un alcoolate ou un thioalcoolate alcalin ou alcalinoterreux, tel qu'un sel de sodium ou de potassium ou de lithium ou d'ammonium ou de césium ou de baryum, dans un solvant aprotique polaire
- 15 tel que le DMF ou le DMSO ou la NMP, à une température comprise entre $50^{\circ}C$ et le reflux.

Méthode générale 3

- Selon un troisième procédé de préparation les composés pour lesquels R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle, droit ou
- 20 ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent également être préparés par condensation d'un bisguanide de formule générale (E), dans lequel Ar_1 et Ar_2 d'une part et R_3 et R'_3 d'autre part sont identiques ou différents, avec un dérivé d'acide, préférentiellement un chlorure d'acide ou un ester de méthyle de formule générale (F) selon le schéma 4 :

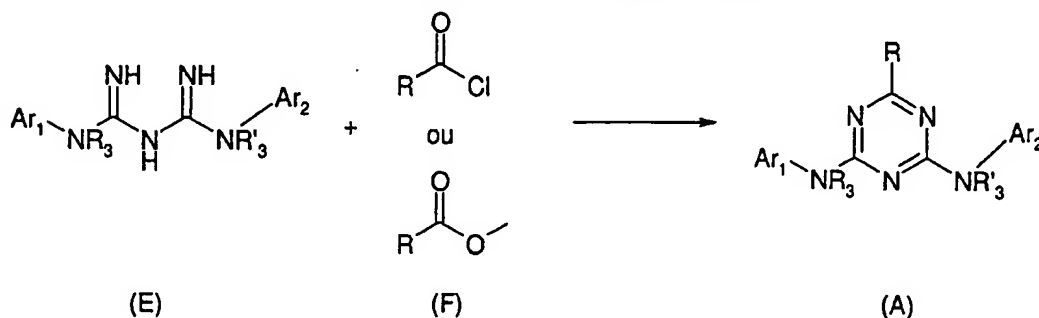


Schéma 4

La condensation entre le bisguanide de formule générale (E) et le dérivé d'acide de formule générale (F) est effectuée généralement dans un alcool comme le méthanol ou l'éthanol. On préfère opérer à une température comprise entre 0°C et la température de reflux.

- 5 Les bisguanides de formule générale (E) symétriques ou dissymétriques peuvent être obtenus en opérant dans les conditions décrites dans la littérature et en particulier selon le brevet J.P. 94-4993.

Méthode générale 4

- 10 Les produits de formule générale (A), dans lesquels Ar₁ et Ar₂ sont identiques, définis comme précédemment et représentés par Ar, et où R représente un groupe alkyle, droit ou ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent également être préparés par condensation d'une cyanoguanidine de formule générale (G), dans laquelle Ar est défini comme précédemment, avec un nitrile de formule générale (H) selon le schéma 4 :

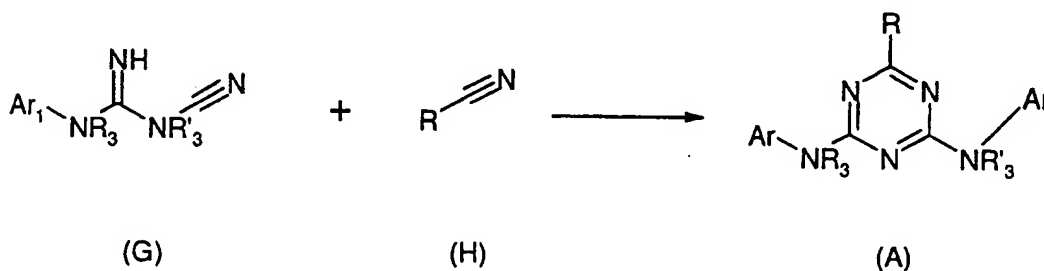


Schéma 5

- 20 La condensation de la cyanoguanidine de formule générale (G) avec le nitrile de formule générale (H) est notamment effectuée en opérant au reflux d'un solvant polaire à haut point d'ébullition tel que le 2-méthoxy-éthanol ou le 1,2-diméthoxyéthane.

Les cyanoguanidines de formule générale (G) peuvent être préparées dans les conditions décrites dans la littérature.

- 25 Il est entendu que les s-triazines de formule générale peuvent être obtenues sous forme de bibliothèques, en appliquant les méthodes décrites dans les schémas 1, 2, 3, 4 ou 5 en chimie parallèle et/ou combinatoire en phase liquide ou en phase solide, étant entendu que, lorsqu'on travaille en phase solide, l'un quelconque des réactifs est préalablement fixé sur un support

solide, choisi en fonction de la réaction chimique mise en jeu, et que ladite réaction chimique est suivie d'une opération de clivage du produit de la réaction du support solide.

5 La présente invention concerne aussi les compositions thérapeutiques contenant un composé selon l'invention, en association avec un support pharmaceutiquement acceptable selon le mode d'administration choisi. La composition pharmaceutique peut se présenter sous forme solide, liquide ou de liposomes.

10 Parmi les compositions solides on peut citer les poudres, les gélules, les comprimés. Parmi les formes orales on peut aussi inclure les formes solides protégées vis-à-vis du milieu acide de l'estomac. Les supports utilisés pour les formes solides sont constitués notamment de supports minéraux comme les phosphates, les carbonates ou de supports organiques comme le lactose, les celluloses, l'amidon ou les polymères. Les formes liquides sont
15 constituées de solutions de suspensions ou de dispersions. Elles contiennent comme support dispersif soit l'eau, soit un solvant organique (éthanol, NMP ou autres) ou de mélanges d'agents tensioactifs et de solvants ou d'agents complexants et de solvants.

20 La dose administrée des composés de l'invention sera adaptée par le praticien en fonction de la voie d'administration du patient et de l'état de ce dernier.

Les composés de la présente invention peuvent être administrés seuls ou en mélange avec d'autres anticancéreux. Parmi les associations possibles on peut citer

- 25
- les agents alkylants et notamment le cyclophosphamide, le melphalan, l'ifosfamide, le chlorambucil, le busulfan, le thiotepa, la prednimustine, la carmustine, la lomustine, la semustine, la steptozotocine, la decarbazine, la témozolomide, la procarbazine et l'hexaméthylmélamine
- 30
- les dérivés du platine comme notamment le cisplatine, le carboplatine ou l'oxaliplatine
 - les agents antibiotiques comme notamment la bléomycine, la mitomycine, la dactinomycine,

- les agents antimicrotubules comme notamment la vinblastine, la vincristine, la vindésine, la vinorelbine, les taxoides (paclitaxel et docétaxel)
- 5 • les anthracyclines comme notamment la doxorubicine, la daunorubicine, l'idarubicine, l'épirubicine, la mitoxantrone, la losoxantrone
- les topoisomérases des groupes I et II telles que l'étoposide, le teniposide, l'amsacrine, l'irinotecan, le topotecan et le tomudex,
- 10 • les fluoropyrimidines telles que le 5-fluorouracile, l'UFT, la floxuridine,
- les analogues de cytidine telles que la 5-azacytidine, la cytarabine, la gemcitabine, la 6-mercaptopurine, la 6-thioguanine
- les analogues d'adénosine telles que la pentostatine, la
- 15 cytarabine ou le phosphate de fludarabine
- le méthotrexate et l'acide folinique
- les enzymes et composés divers tels que la L-asparaginase, l'hydroxyurée, l'acide trans-rétinoïque, la suramine, la dexrazoxane, l'amifostine, l'herceptin ainsi que les hormones
- 20 oestrogéniques, androgéniques
- les agents antivasculaires tels que les dérivés de la combretastatine ou de la colchicine et leur prodrug.

Il est également possible d'associer aux composés de la présente invention un traitement par les radiations. Ces traitements peuvent être

25 administrés simultanément, séparément, séquentiellement. Le traitement sera adapté au malade à traiter par le praticien.

L'activité de stabilisation des G-quadruplexes peut être déterminée par une méthode utilisant la formation d'un complexe avec la fluoresceine dont le protocole expérimental est décrit ci-après.

Oligonucléotides

Tous les oligonucléotides, modifiés ou non, ont été synthétisés par Eurogentec SA, Seraing, Belgique. L'oligonucléotide FAM + DABCYL porte la référence catalogue, OL-0371-0802. Il possède la séquence:
5 GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG correspondant à 3.5 répétitions du motif télomérique humain (brin riche en G). La fluoresceine est attaché à l'extrémité 5', le DABCYL à l'extrémité 3', par les bras chimiques décrit par Eurogentec. La concentration des échantillons est vérifiée par spectrophotométrie, en enregistrant le spectre d'absorbance entre 220 et
10 700 nm et en utilisant le coefficient d'extinction molaire fourni par le fournisseur.

Tampons

Toutes les expériences ont été réalisées dans un tampon cacodylate de sodium 10 mM pH 7.6 contenant 0.1 M de Chlorure de Lithium (ou de
15 Chlorure de Sodium). L'absence de contamination fluorescente dans le tampon a été préalablement vérifiée. L'oligonucléotide fluorescent est ajouté à la concentration finale de 0.2 μ M.

Etude de Fluorescence

Toutes les mesures de fluorescence ont été effectuées sur un
20 appareil Spex Fluorolog DM1B, en utilisant une largeur de raie d'excitation de 1.8 nm et une largeur de raie d'émission de 4.5 nm. Les échantillons sont placés dans une cuvette en quartz micro de 0.2 x 1 cm. La température de l'échantillon est contrôlée par un bain-marie extérieur. L'oligonucléotide seul a été analysé à 20, 30, 40, 50, 60, 70 et 80°C. Les spectres d'émission sont
25 enregistrés en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 470 nm. Les spectres d'excitation sont enregistrés en utilisant soit 515 nm soit 588 nm comme longueur d'onde d'émission. Les spectres sont corrigés de la réponse de l'instrument par des courbes de référence. Une extinction importante (80-90 %) de la fluorescence de la fluoresceine à température ambiante est
30 observée, en accord avec un repli intramoléculaire de l'oligonucléotide à 20°C sous forme d'un G-quadruplex, ce qui induit une juxtaposition de ses extrémités 5' et 3', respectivement liées à la fluoresceine et au DABCYL.

Cette juxtaposition entraîne un phénomène déjà décrit d'extinction de fluorescence, utilisé pour les "Molecular Beacons".

T_m en fluorescence

Une solution stock d'oligonucléotide à la concentration en brin de 0.2 μ M dans un tampon 0.1 M LiCl 10 mM cacodylate pH 7.6 est préalablement préparée, chauffée brièvement à 90°C et refroidie lentement à 20°C, puis distribuée par aliquots de 600 μ l dans les cuves de fluorescence. 3 μ l d' eau (pour le contrôle) ou 3 μ l du produit à tester (stock à 200 μ M, concentration finale 1 μ M) sont alors ajoutés et mélangés. Les échantillons sont alors laissés à incuber pendant au moins 1 heure à 20°C avant chaque mesure. L'utilisation de temps d'incubation plus longs (jusqu'à 24 heures) n'a pas d'influence sur le résultat obtenu.

Chaque expérience ne permet que la mesure d'un seul échantillon. Celui ci est d'abord incubé à une température initiale de 20°C, porté à 80°C en 38 minutes, laissé 5 minutes à 80°C, puis refroidi à 20°C en 62 minutes. Durant ce temps, la fluorescence est mesurée simultanément à deux longueurs d'onde d'émission (515 nm et 588 nm) en utilisant 470 nm comme longueur d'onde d'excitation. Une mesure est effectuée toutes les 30 secondes. La température du bain-marie est enregistrée en parallèle, et le profil de fluorescence en fonction de la température est reconstitué à partir de ces valeurs. Les profils de fluorescence sont ensuite normalisés entre 20°C et 80°C, et la température pour laquelle l'intensité d'émission à 515 nm est la moyenne de celles à haute et basse température est appelée T_m. Dans ces conditions, le T_m de l'échantillon de référence sans addition de produit est de 44°C dans un tampon Chlorure de Lithium. Cette température est portée à plus de 55°C dans un tampon Chlorure de Sodium. L'addition d'un composé stabilisant le G-quadruplex induit une augmentation du T_m. Cette augmentation est jugée significative si elle est supérieure à 3°.

L'activité biologique antitélomérase est déterminée par le protocole expérimental suivant :

Préparation de l'extrait enrichi en activité télomérase humaine

La lignée de leucémie HL60 est obtenue auprès de l'ATCC (American Type Culture Collection, Rockville USA). Les cellules sont

cultivées en suspension dans du milieu RPMI 1640 contenant, L-Glutamine à 2 mM, Pénicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml, gentamycine 50 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur.

Une aliquote de 10^5 cellules est centrifugée à 3000xG et le surnageant écarté. Le culot de cellules est resuspendu par plusieurs pipettages successifs dans 200 µl de tampon de lyse contenant CHAPS 0.5 %, Tris-HCl pH 7,5 10 mM, $MgCl_2$ 1mM, EGTA 1 mM, β -mercaptoéthanol 5 mM, PMSF 0.1 mM et glycérol 10 % et est conservé dans la glace pendant 30 minutes. Le lysat est centrifugé à 16 000xG pendant 20 minutes à 4°C et 160 µl du surnageant est récupéré. Le dosage des protéines de l'extrait est effectué par la méthode de Bradford. L'extrait est conservé à -80°C.

Dosage de l'activité télomérase

L'inhibition de l'activité télomérase est déterminée par un protocole d'extension de l'oligonucléotide TS ($5'$ AATCGTTTCGAGCAGAGTT $3'$), en présence d'un extrait cellulaire enrichi en activité télomérase et des composés qui sont ajoutés à différentes concentrations (10, 1, 0.1 et 0,01 µM). La réaction d'extension est suivie d'une amplification PCR des produits d'extension à l'aide des oligonucléotides TS et CXext ($5'$ GTGCCCTTACCCTTACCCTTACCCTAA $3'$).

Le milieu réactionnel est préparé selon la composition suivante :

	Tris HCl pH 8,3	20 mM
	MgCl ₂	1,5 mM
	Tween 20	0,005 % (P/V)
	EGTA	1 mM
25	dATP	50 µM
	dGTP	50 µM
	dCTP	50 µM
	dTTP	50 µM
	Oligonucléotide TS	2 µg/ml
30	Oligonucléotide CXext	2 µg/ml

	Sérum Albumine bovine	0,1 mg/ml
	Taq DNA polymérase	1 U/ml
	alpha 32P dCTP (3000 Ci/mmol)	0.5 µl
	Extrait télomérase	200 ng sous un volume de 10 µl
5	Produit à tester ou solvant	sous un volume de 5 µl
	Eau bi-distillée QS	50 µl

Les oligonucléotides sont obtenus auprès d'Eurogentec (Belgique) et sont conservés à -20°C à une concentration stock de 1 mg/ml dans de l'eau distillée.

- 10 Les échantillons réactionnels sont assemblés dans des tubes à PCR de 0.2 ml et une goutte d'huile de paraffine est déposée sur chacune des réactions de l'expérience avant la fermeture des tubes.

Les échantillons réactionnels sont ensuite incubés dans un appareil à PCR de type Cetus 4800 selon les conditions de températures suivantes :

- 15 15 minutes à 30°C,
1 minute à 90°C,
suivis de 30 cycles de,
30 secondes à 94°C,
30 secondes à 50°C,
20 et 1 minute 30 secondes à 72°C,
suivis d'un cycle final de 2 minutes à 72°C.

Pour chacun des échantillons, une aliquote de 10 µl est pipetée sous la couche d'huile et mélangée avec 5 µl d'un tampon de dépôt contenant :

	TBE	3X
25	glycérol	32 % (P/V)
	Bleu de bromophénol	0.03 %
	Xylène cyanol	0.03 %

Les échantillons sont ensuite analysés par électrophorèse en gel d'acrylamide 12 % dans un tampon TBE 1X pendant 1 heure sous une tension de 200 volts, à l'aide d'un système d'électrophorèse Novex.

- 5 Les gels d'acrylamides sont ensuite séchés sur une feuille de papier Whatmann 3 mm à 80°C pendant 1 heure.

L'analyse et la quantification des produits de la réaction sont effectuées à l'aide d'un appareil InstantImager (Pacard).

- 10 Pour chaque concentration de composé testée, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la réaction et calculés à partir du contrôle enzymatique non traité et de l'échantillon sans enzyme (blanc) selon la formule suivante :

$$\left(\frac{\text{Valeur Composé} - \text{valeur blanc}}{\text{Valeur contrôle enzymatique} - \text{valeur blanc}} \right) \times 100.$$

- 15 La concentration de composé induisant une inhibition de 50 % de la réaction télomérase (IC50) est déterminée à l'aide d'une représentation graphique semi logarithmique des valeurs d'inhibition obtenues en fonction de chacune des concentrations de composé testée.

- 20 On considère qu'un composé est actif en tant qu'agent antitélomérase lorsque la quantité inhibant 50 % de la réaction télomérase est notamment inférieure à 5 µM.

L'activité biologique cytotoxique sur des lignées de tumeur humaines est déterminée selon le protocole expérimental suivant :

- 25 Les lignées de cellules humaines A549 sont originaires de l'ATCC (Americam Type Culture Collection, Rockville USA). Les cellules A549 sont cultivées en couche en flacon de culture dans du milieu RPMI 1640, L-Glutamine à 2 mM, Pénicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur. Les cellules KB sont cultivées en couche en flacon de culture dans du milieu de Dulbelco's contenant, L-Glutamine à 2 mM, Pénicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur.
- 30

Les cellules en phase exponentielles de croissances sont trypsinées, lavées dans du PBS 1X et sontensemencées en microplaques 96 puits (Costar) à raison de 4×10^4 cellules/ml pour A549 et de $1,5 \times 10^4$ cellules/ml (0.2 ml/puit) puis incubées pendant 96 heures en présence de concentrations variables de produit à étudier (10, 1, 0.1 et 0.01 μ M, chaque point en quadruplicata). 16 heures avant la fin de l'incubation, 0.02 % final de rouge neutre est ajouté dans chaque puits. A la fin de l'incubation, les cellules sont lavées par du PBS 1X et lysées par 1 % de lauryl sulfate de sodium. L'incorporation cellulaire du colorant, qui reflète la croissance cellulaire, est évaluée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540 nm pour chaque échantillon à l'aide d'un appareil de lecture Dynatech MR5000.

Pour chaque concentration de composé testée, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de croissance cellulaire et calculés à partir du contrôle non traité et du milieu de culture sans cellules (blanc) selon la formule suivante :

$$\frac{(\text{Valeur Composé} - \text{valeur blanc})}{(\text{Valeur contrôle cellules} - \text{valeur blanc})} \times 100$$

La concentration de composé induisant une inhibition de 50 % de la croissance (IC50) est déterminée à l'aide d'une représentation graphique semi logarithmique des valeurs d'inhibition obtenues en fonction de chacune des concentrations de composé testée.

On considère qu'un composé est actif comme agent cytotoxique si la concentration inhibitrice de 50 % de la croissance des cellules tumorales testées est notamment inférieure à 10 μ M.

Les exemples suivants et non limitatifs sont donnés pour illustrer l'invention.

Exemple 1

Préparation du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine

Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 200 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 41,6 g (0,16 mol) de chlorhydrate du chlorure de 1-méthyl-4,6-diaminoquinaldinium, qui peut-être obtenu selon J. Chem. Soc.,

1953, 50. On obtient une solution limpide jaune foncée où l'on coule 800 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité. On porte à 45°C pour dissoudre, puis on ajoute 13,2 g (0,08 mol) de 2-amino-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 662. Après quelques minutes, un précipité jaune apparaît, et on chauffe à reflux 1 heure. On refroidit et on laisse une nuit en glacière. Le précipité obtenu est filtré et lavé par quatre fois 100 cm³ de d'éthanol aqueux à 80 % puis séché à 45°C. On obtient ainsi 47 g (100 %) de monochlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine.

10 Libération et purification de la forme base

Dans un tricol de 2 dm³, on ajoute 1,2 dm³ d'eau distillée puis 47 g du monochlorhydrate obtenu ci-dessus, on porte à 55°C et on coule 30 cm³ d'ammoniaque concentré (d=0,925), puis on chauffe à 85°C pour favoriser la solubilisation. Un insoluble est filtré à chaud sur 40 g de Supercel et lavé par trois fois 50 cm³ d'eau bouillante. Après concentration du filtrat au demi, et nouvelle filtration sur 10 g de Supercel, on ajoute 1,2 dm³ d'éthanol et on agite 5 minutes, puis laisse au repos une nuit en glacière. Au matin, on filtre, on lave par trois fois 50 cm³ d'éthanol à 66 % et par deux fois 50 cm³ d'éthanol, on sèche sous vide à 45°C, et l'on obtient 34,2 g (79 %) de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine brut. Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 600 cm³ d'eau distillée et les 34,2 g de base brute, sous agitation on porte à 50°C jusqu'à dissolution presque totale, et on filtre l'insoluble. Le filtrat résultant est chargé dans un tricol de 3 dm³, sous agitation on coule rapidement 1,4 dm³ d'éthanol. Le précipité blanchâtre gélatineux obtenu est filtré, lavé par trois fois 100 cm³ d'éthanol, séché sous vide à 45°C, et l'on obtient 30,7 g (71 %) de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine, sous la forme d'un solide blanc dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 334°C.
- spectre RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ en ppm) : 2,72 (s : 6H) ; 4,01 (s : 6H) ; 6,79 (s : 2H) ; 7,09 (mf : 2H) ; 8,11 (d, J = 10 Hz : 2H) ; 8,21 (dd, J = 10 et 2 Hz : 2H) ; de 8,40 à 8,75 (mf étalé : 4H) ; 9,01 (s large : 2H) ; 9,83 (mf : 2H).

Exemple 2

Préparation du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 75 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 16,45 g (0,06 mol) de chlorhydrate du chlorure de 1-éthyl-4,6-diamino-quinaldinium, qui peut être obtenu selon le brevet U.S. 2 585 905, puis on coule 300 cm³ d'éthanol. On porte à 55°C, puis on ajoute 4,95 g (0,03 mol) 2-amino-4,6-dichloro-triazine et on chauffe à reflux 2 heures et demie. On refroidit et on laisse une nuit en glacière. Le précipité obtenu est filtré, lavé par 100 cm³ d'éthanol à 80 % puis séché à 45°C. On obtient ainsi 16,47 g (91 %) de monochlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine.

Libération et purification de la forme base

Dans un ballon de 250 cm³ contenant 200 cm³ d'eau distillée, sous agitation on charge les 16,47 g de monochlorhydrate obtenu précédemment et on coule 8 cm³ d'ammoniaque concentré (d=0,925), on porte à reflux pour favoriser la solubilisation. On filtre à chaud sur Supercel un léger insoluble qu'on lave par deux fois 10 cm³ d'eau bouillante. Après concentration du filtrat au demi, on ajoute sous agitation 350 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité blanc, laissé une nuit en glacière. Le précipité est filtré, lavé par cinq fois 10 cm³ d'éthanol à 80 %, séché sous vide à 55°C, et l'on obtient 12,87 g (76 %) du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine, sous forme d'une poudre blanche hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 302°C
- spectre RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ en ppm) : 1,42 (t, J = 7 Hz : 6H) ; 2,74 (s : 6H) ; 4,57 (q, J = 7 Hz : 4H) ; 6,80 (s : 2H) ; 7,09 (mf : 2H) ; 8,13 (d, J = 10 Hz : 2H) ; 8,21 (dd, J = 10 et 2 Hz : 2H) ; de 8,40 à 8,75 (mf étalé : 4H) ; 9,01 (s large : 2H) ; 9,83 (mf : 2H).

30

Exemple 3Préparation du dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 60 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 13,01 g (0,05 mol) du chlorhydrate du chlorure de 1-méthyl-4,6-diamino-quinaldinium, qui peut être obtenu selon J. Chem. Soc., 1953, 50. On obtient une solution jaune où l'on coule 240 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité jaune. Après dissolution par chauffage à 50°C, on ajoute 4,83 g (0,025 mol) de 2-diméthylamino-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 3726. Après quelques minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 1 heure et demie. On refroidit 1 heure dans un bain de glace, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par quatre fois 30 cm³ d'éthanol et séché. On obtient 12,92 g (86 %) de dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 345°C
- spectre RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm) : 2,72 (s : 6H) ; 3,18 (s : 6H) ; 4,00 (s : 6H) ; 6,75 (s : 2H) ; 8,12 (d, J = 9,5 Hz : 2H) ; 8,22 (mt : 2H) ; de 8,40 à 8,65 (mf étalé : 4H) ; 8,79 (s large : 2H) ; 9,83 (mf : 2H).

Exemple 4Préparation du trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny) amino]-triazine

Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 34 cm³ d'eau distillée et 126 cm³ d'acide chlorhydrique normal, et on charge sous agitation 21,82 g (0,1 mol) de 4,6-diaminoquinaldine, qui peut être obtenue selon J. Chem. Soc., 1953, 50. A la solution orangée obtenue, on coule 600 cm³ d'éthanol, on porte à 65°C, puis on ajoute 10,74 g (0,06 mol) de 2-méthylamino-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon Chem. Berichte, 1899, 32, 700, et on coule 40 cm³ d'éthanol. Un précipité jaune apparaît qui s'épaissit rapidement en chauffant à reflux 2 heures. Après refroidissement une nuit en glacière, le précipité obtenu est filtré, lavé par trois fois 120 cm³ d'éthanol à 80 %, séché

et on obtient 27,3 g (81 %) de trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'une poudre blanche hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 340°C
- 5 - spectre RMN. ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d6, δ en ppm) : 2,62 (s large : 6H) ; 2,94 (s large : 3H) ; 6,64 (s large : 2H) ; de 7,60 à 7,80 (mf étalé : 1H) ; 7,89 (d large, $J = 9,5$ Hz : 2H) ; 8,10 (d large, $J = 9,5$ Hz : 2H) ; de 8,35 à 8,65 (mf étalé : 4H) ; de 8,70 à 8,95 (mf étalé : 2H) ; de 9,80 à 10,00 (mf étalé : 2H) ; 13,76 (mf : 2H).

10 **Exemple 5**

Préparation du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine

- Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 225 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 41,5 g (0,18 mol) de chlorhydrate de chlorure de
- 15 1-méthyl-6-aminoquinoléinium, qui peut être obtenu selon Zh.Org.Khim. ; 1993, 29(10), 2018.

- On obtient une solution jaune où on coule 900 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité. Après dissolution par chauffage à 50°C, on ajoute 14,8 g (0,09 mol) de 2-amino-4,6-dichloro-triazine, et on chauffe à
- 20 reflux 1 heure, un précipité jaune apparaît rapidement. On refroidit une nuit dans la glacière, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par deux fois 50 cm³ d'éthanol, séché et on obtient 36,6 g (79 %) de monochlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine.

Libération et purification de la forme base

- Dans un tricol de 1 dm³, on ajoute 200 cm³ d'eau distillée, puis on charge sous agitation les 36,6 g de monochlorhydrate obtenu précédemment, on porte à 80°C et on coule 10 cm³ d'ammoniaque concentré ($d=0,925$), et on filtre un insoluble sur Supercel. Dans un tricol de 6 dm³, contenant 3 dm³ d'éthanol, on coule sous agitation en 5 minutes le filtrat
- 30 précédent, un fin précipité jaune vif apparaît, qui est laissé 2 jours en glacière, puis filtré, lavé par deux fois 50 cm³ d'éthanol, séché et on obtient 19,1 g (44 %) de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)

amino]-triazine, sous forme d'une poudre jaune hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 296°C

5 - spectre RMN ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}-d_6$, δ en ppm) : 4,64 (s : 6H) ;
7,11 (mf : 2H) ; 8,10 (dd, $J = 8,5$ et 6 Hz : 2H) ; 8,46 (d, $J = 10$ Hz : 2H) ;
8,56 (dd, $J = 10$ et 2 Hz : 2H) ; 9,17 (d large, $J = 8,5$ Hz : 2H) ; 9,30 (mt :
4H) ; 10,26 (mf : 2H).

Exemple 6

10 Préparation du trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-
méthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

Etape A : Préparation de la 4-méthylamino-6-amino-quinaldine

15 Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 240 cm³ d'acide acétique et on
charge sous agitation 57,4 g (0,25 mol) de 6-acétamido-4-méthoxy-
quinaldine préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 4065. On fait
barboter sous agitation de la méthylamine jusqu'à saturation, puis on porte à
20 reflux 2 heures. On refroidit, et fait de nouveau l'opération précédente, on
refroidit, et on coule sous agitation la solution obtenue dans un tricol de
2 dm³, contenant 300 cm³ d'eau distillée et 470 cm³ d'acide chlorhydrique
normal. On chauffe alors à 100°C pendant 11 heures puis on laisse une nuit
25 en glacière. Le produit cristallisé est filtré, donnant 25 g de chlorhydrate, les
liqueurs mères sont concentrées, laissées une nuit en glacière puis filtrées
pour donner de nouveau 150 g de chlorhydrate. Les 175 g de chlorhydrate
sont repris par 300 cm³ d'eau distillée et dissous par chauffage à 50°C,
traités par 1 g de noir et filtrés sur Supercel. On porte le filtrat à 90°C et on
30 alcalinise par addition de 54 cm³ de soude concentrée. Le précipité obtenu
par refroidissement la nuit en glacière est lavé par quatre fois 100 cm³ d'eau
distillée, séché et on obtient 33 g (70 %) du 4-méthylamino-6-amino-
quinaldine

Etape B

30 Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 25 cm³ d'eau distillée et 101 cm³
d'acide chlorhydrique normal, et on charge 18.9 g (0,101 mol) de
4-méthylamino-6-amino quinaldine, la solution orangée obtenue est portée à

- 75°C, puis on coule en 2 minutes 500 cm³ d'éthanol, et on ajoute d'un coup 8,59 g (0,048 mol) 2-méthylamino-4,6-dichloro-triazine, préparée selon l'exemple 4. Après 5 minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 2 heures, on laisse refroidir sous agitation 3 heures et on abandonne 8 jours
- 5 en glacière. Le précipité obtenu est filtré, lavé par deux fois 100 cm³ d'éthanol à 80 % et par trois fois 100 cm³ d'éthanol, séché et on obtient 21,7 g (77 %) du trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :
- 10 - point de fusion = 355°C
- spectre RMN. ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm) : 2,68 (s : 6H) ; 2,93 (s : 3H) ; 3,04 (mf : 6H) ; 6,59 (s : 2H) ; de 7,40 à 7,70 (mf étalé : 1H) ; 7,88 (d, J = 9 Hz : 2H) ; 8,08 (d large, J = 9 Hz : 2H) ; de 8,50 à 8,95 (mf étalé : 2H) ; de 8,75 à 8,95 (mf : 2H) ; de 9,70 à 10,10 (mf étalé : 2H) ;
- 15 13,79 (mf : 2H).

Exemple 7

Préparation du chlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine

Etape A : Préparation de la 2-acétamido-9-amino-acridine

- 20 Dans un tricol de 250 cm³, on introduit 72 cm³ d'acide acétique et on charge sous agitation 12 g (0,0575 mol) de 2,9-diaminoacridine, préparée selon J. Chem. Soc., 1949, 1148, puis on coule 4,1 cm³ (0,0575 mol) de chlorure d'acétyle. La température monte à 50°C et la solution se prend en masse. On maintient à 60°C pendant 1 heure, on refroidit et on dilue par
- 25 200 cm³ d'oxyde de diéthyle. Par filtration, on obtient 15,2 g de chlorhydrate. Dans un ballon de 4 dm³, on introduit 2 dm³ d'eau distillée et on charge sous agitation les 15,2 g de chlorhydrate. On porte à reflux, on filtre et on alcalinise par l'ammoniaque. La base cristallise, est filtrée et séchée. On obtient 11,2 g (78 %) de 2-acétamido-9-amino-acridine.

Etape B : Préparation du sulfate de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 300 cm³ de nitrobenzène puis successivement sous agitation 11,2 g (0,0446 mol) de 2-acétamido-9-amino
5 acridine et 11 cm³ (0,116 mol) de sulfate de diméthyle. On porte ensuite à 140°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, on filtre le précipité obtenu, qui est lavé par 20 cm³ de nitrobenzène et six fois 20 cm³ d'oxyde de diéthyle, séché à l'air et l'on obtient 14,35 g (85 %) de sulfate de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium.

10 Etape C : Préparation du chlorhydrate du chlorure de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium.

Dans un ballon de 2 dm³, on introduit 600 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 13 g de sulfate de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium (0,0344 mol), on porte à reflux jusqu'à dissolution presque
15 complète et on filtre l'insoluble. Après refroidissement, on coule 900 cm³ d'une solution aqueuse à 35 % de chlorure de sodium, on laisse précipiter et on filtre. Dans un ballon de 100 cm³, on introduit 20 cm³ d'acide chlorhydrique concentré (d=1,18) et on charge le composé précédent que l'on porte 5 minutes à reflux, on dilue par 67 cm³ d'éthanol et on laisse cristalliser dans
20 la glace. Les cristaux formés sont filtrés, lavés par deux fois 5 cm³ d'éthanol et par trois fois 10 cm³ d'oxyde de diéthyle, séchés et on obtient 5,1 g (50 %) de chlorhydrate du chlorure de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium.

Etape D

Dans un tricol de 100 cm³, on introduit 5 cm³ d'eau distillée et 37 cm³
25 d'éthanol et on charge sous agitation 1 g (0,00338 mol) du chlorhydrate du chlorure de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium, on porte à 80°C et on ajoute 0,28 g (0,0017 mol) de 2-amino-4,6-dichloro-triazine. Après 5 minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 2 heures, puis on laisse refroidir, on filtre, on lave par trois fois 3 cm³ d'éthanol et par 5 cm³ d'éther, on
30 sèche sous vide et on obtient 0,8 g (73 %) du chlorhydrate de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine, sous forme

d'une poudre ocre jaune hygroscopique dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 310°C

Exemple 8

- 5 Préparation du trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine (la base correspondante est aussi appelée SURFENE C)

10 Dans un tricol de 10 dm³, on introduit 5,25 dm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 368,4 g (2,127 mol) de 4,6-diaminoquinaldine, préparée selon l'exemple 4, puis on ajoute 117 g (0,709 mol) 2-amino-4,6-dichloro-triazine. Un précipité jaune se forme immédiatement, on porte à reflux 2 heures. Après refroidissement et acidification à pH=3,4 par addition de 1,3 dm³ d'acide chlorhydrique normal, on porte à reflux 15 minutes, on ajoute 20 g de noir et on maintient le reflux 10 minutes, puis on filtre. Dans un

15 tricol de 10 dm³, on introduit la solution précédente que l'on porte à 80°C, puis on coule en 30 minutes 852 cm³ d'acide chlorhydrique (d=1,19). En fin de coulée, un précipité jaune pâle apparaît, qui, après refroidissement au bain de glace, est filtré, lavé par quatre fois 250 cm³ d'une solution d'acide chlorhydrique, composée de 250 cm³ d'acide chlorhydrique (d=1,19) et de

20 2 dm³ d'eau distillée, puis séché sous vide à 60°C et on obtient 385,4 g (99 %) trichlorhydrate. Dans un tricol de 4 dm³, on introduit 1,9 dm³ d'éthanol et on charge 385,4 g précédents et on agite 5 heures à température ambiante à l'abri de la lumière, on filtre puis on lave par deux fois 250 cm³ d'éthanol et sèche ; on obtient 346 g (89 %) du trichlorhydrate de 2-amino-

25 bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 345°C

Exemple 9

Trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-(p-amidinoanilino)-triazine

- 30 Ce produit peut être obtenu selon J. Chem. Soc., 1960, 4525 sous forme d'une poudre crème hygroscopique.

Exemple 10Préparation du dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 60 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 13,01 g (0,05 mol) du chlorhydrate du chlorure de 1-méthyl-4,6-diaminoquinaldinium, qui peut être obtenu selon J. Chem. Soc., 1953, 50. On obtient une solution jaune où l'on coule 240 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité jaune. Après dissolution par chauffage à 50°C, on ajoute 4,90 g (0,025 mol) de 2-méthylthio-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon Ang. Chem. Int Ed., 1966, 5, 960. Après quelques minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux une heure et demie. On refroidit une nuit à la glacière, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par quatre fois 30 cm³ d'éthanol et séché. On obtient 10,70 g (75 %) de dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 320°C

Exemple 11

Préparation du dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinylo)amino]-triazine

Etape A : Préparation de la 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine

On opère comme à l'étape A de l'exemple 6, mais à partir de 57,4 g (0,25 mol) de 6-acétamido-4-méthoxy-quinaldine, préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 4065, et de 100 cm³ d'une solution aqueuse à 40 % de diméthylamine dans 250 cm³ d'acide acétique chauffés à 100°C pendant 2 heures dans un autoclave de 1 dm³. On obtient alors, après purification acide-base en opérant comme à l'étape A de l'exemple 6, 38,71g (77 %) de 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine.

Etape B

Dans un tricol de 25 cm³, on dissout 402 mg (2 mmoles) de 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine dans 7 cm³ d'acide acétique, puis on ajoute en 2 minutes 184 mg (1 mmole) de chlorure de cyanuryle puis on chauffe à 90°C pendant 3 heures. Après refroidissement, les cristaux formés sont essorés, lavés par 2,5 cm³ d'acide acétique et séchés sous vide à 100°C. On obtient ainsi 588 mg (94 %) de dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme de cristaux jaune-pâles dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 350°C
- analyse élémentaire : % C = 51,75 (calc = 52,06) ; % H = 5,67 (calc = 5,50) ; % N = 19,98 (calc = 20,23) _

Exemple 12

Préparation de l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

Dans un tricol de 250 cm³, on introduit 100 cm³ d'éthanol aqueux à 90 % et on charge sous agitation 4,02 g (0,02 mol) de 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine préparée à l'étape A de l'exemple 11 et 1,96 g (0,01 mol) de 2-méthylthio-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon Ang. Chem. Int. Ed., 1966, 5, 960. Après quelques minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 1 heure et demie. On refroidit une nuit à la glacière, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par quatre fois 30 cm³ d'éthanol et séché. On obtient 5,26 g (88 %) de chlorhydrate brut.

Dans un tricol de 250 cm³, on ajoute 75 cm³ d'éthanol aqueux à 90 %, puis on charge sous agitation les 5,26 g de chlorhydrate obtenu précédemment, on porte à 80°C et on coule 5 cm³ d'ammoniaque concentré (d = 0,925), et on laisse cristalliser 2 jours à la glacière. On filtre, on lave par deux fois 5 cm³ d'éthanol aqueux à 90 %, on sèche et l'on obtient 3,20 g (59,5 %) d'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'un solide jaune pâle dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 280-3°C

- analyse élémentaire : % C = 62,06 (calc = 62,48) ; % H = 5,81 (calc = 62,48) ; % N = 23,80 (calc = 23,42).

Exemple 13

Préparation du dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldinyl)urée

5 (la base correspondante, aussi appelée SURFENE peut être préparée selon Ang. Chem 1939, 891)

Dans un tricol de 500 cm³, on introduit 400 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 30 g (0,2 mol) de 4,6-diaminoquinaldine, qui peut être préparée selon J. Chem. Soc., 1953, 50, puis on ajoute 8,4 g (0,06 mol) d'acétate de sodium trihydrate et on chauffe à 95-96°C. On fait alors passer
10 un courant de phosgène jusqu'à saturation (5 à 10 minutes), puis on maintient à 95-96°C pendant 1 heure. Après refroidissement et acidification par addition de 200 cm³ d'acide chlorhydrique 6 N, le précipité formé est essoré, lavé par 200 cm³ d'acide chlorhydrique N et séché sous vide à 60°C,
15 on obtient ainsi 30 g de chlorhydrate brut, qui est recristallisé dans 300 cm³ d'eau distillée et 30 cm³ d'acide chlorhydrique concentré en présence de noir. Après refroidissement, les cristaux formés sont essorés, lavés à l'acide chlorhydrique N, puis à l'acétone et séché sous vide à 40°C. On obtient ainsi
20 27 g (60,5 %) du dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldinyl)urée, sous forme d'une poudre crème hygroscopique dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 329-40°C

Exemple 14

Préparation du diiodure de N¹,N⁵-bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine

25 On dissout, par chauffage vers 50°C, 3 g (7 mmoles) de N¹,N⁵-bis(7-chloroquinoléin-4-yl)pentane-1,5-diamine, qui peut être préparée selon J. Med. Chem. 1992, 35, 2129, dans 60 cm³ de butan-2-one. On ajoute 3 g (21 mmoles) d'iodure de méthyle et on porte au reflux pendant 5 heures. Les
30 cristaux formés sont essorés, lavés à la butan-2-one puis à l'oxyde de diéthyle et séchés sous vide. On obtient ainsi 3 g (60 %) de diiodure de N¹,N⁵-

bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine, sous forme de cristaux beiges dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 277-78°C.

Exemple 15

5 Préparation du trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]pyrimidine

Dans un tricol de 250 cm³, on porte à reflux 1,73 g (10 mmoles) de 4,6-diamino-1-méthyl-quinoléine, qui peut être obtenue selon J. Chem. Soc., 1953, 50, et 0,74 g de 2,4-dichloropyrimidine dans 75 cm³ d'éthanol et 5 cm³ d'eau pendant 5 heures. Le milieu réactionnel est concentré de moitié, puis
10 laissé à cristalliser à la glacière pendant une nuit. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éthanol puis à l'oxyde de diéthyle et séché sous vide. Le précipité obtenu est agité 6 heures dans 10 cm³ d'acide chlorhydrique 0,2 N, puis essoré, lavé à l'eau et séché sous vide à 80°C. On obtient ainsi 0,98 g
15 (46,5 %) de trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]pyrimidine, sous forme d'un solide jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 310-20°C

- analyse élémentaire : % C = 47,37 (calc = 47,46) ; % H = 5,51
20 (calc = 5,67) ; % N = 18,41 (calc = 18,45) ; % Cl = 15,84 (calc = 15,76)

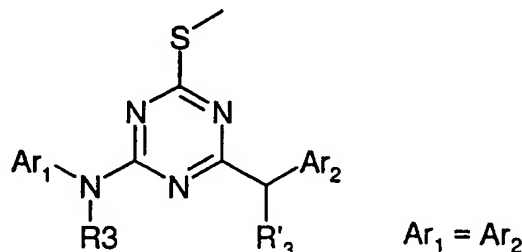
Exemple 16

Préparation du trichlorhydrate dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'-quinaldinyl)biguanide

Dans un tricol de 25 cm³, on ajoute 5 cm³ d'eau, 3 cm³ d'acide
25 chlorhydrique 5N, 1,3 g (7,5 mmoles) de 4,6-diamino-quinaldine, qui peut être obtenue selon J. Chem. Soc., 1953, 50, et 0,34 g (3,75 mmoles) de dicyanamide de sodium et on porte à 50-55°C pendant une nuit. Après refroidissement, le précipité formé est essoré, lavé à l'eau glacée et séché sous vide à 70°C. On obtient ainsi 0,47 g (22,5 %) de trichlorhydrate
30 dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'-quinaldinyl)biguanide, sous forme de cristaux jaunes dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 262-66°C
- analyse élémentaire : % C = 47,85 (calc = 47,56) ; % H = 5,67 (calc = 5,38) ; % N = 22,96 (calc = 22,69) ; % Cl = 18,79 (calc = 19,14).

Exemple 17 : Synthèse en parallèle de dérivés substitués symétriques de 2,4-diamino-6-méthylthio-triazine



Synthèse en parallèle de N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine (exemple 17-1)

- Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type
- 10 STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,25 mmole) de 2,6-dichloro-6-méthylthio-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 662. Dans le premier tube (exemple 17-1), on ajoute successivement 5 ml de toluène, 0,5 ml d'une solution N de soude aqueuse et 88 mg (0,5 mmole) de
- 15 4,6-diamino-quinaldine. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux sous argon pendant 24 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est dilué avec 5 ml d'eau et 5 ml de dichlorométhane. La phase organique est décantée, séchée et concentrée sous pression réduite. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18
- 20 Waters Xterra 3.5 μ M, de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial ($t_0 = 0$ mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final ($t_f = 4$ mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 28 mg de N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-

méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- spectre de masse (DAD-TIC) = 459 (M⁺)
- temps de rétention = 2,95 mn (dans les conditions décrites ci-dessus pour la purification)

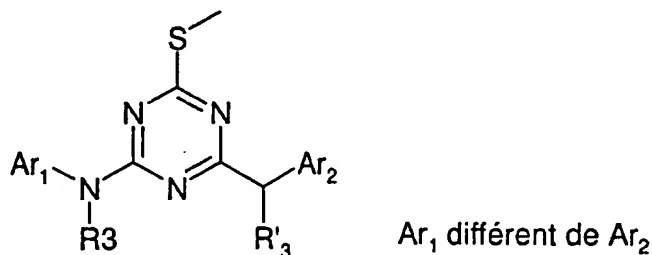
5

Les exemples 17-1 à 17-3 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. L'exemple 17-1 a été isolé sous forme de base et sous forme de chlorhydrate, les exemples 17-2 et 17-3 ont été isolés uniquement sous forme de chlorhydrate après purification LC/MS par reprise dans une solution 1M d'acide chlorhydrique dans l'oxyde de diéthyle. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 17-1 à 17-3 sont résumées dans le tableau de résultats.

10

Exemple 18 : Synthèse en parallèle de dérivés asymétriquement substitués de N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

15



Préparation de la N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

Dans un tricol de 1 litre, à une solution de 5 g (25 mmoles) de 2,6-dichloro-6-méthylthio-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 662, dans 400 ml de tétrahydrofurane, on ajoute successivement 4,4 g (25 mmoles) de 4,6-diamino-quinaldine et 2,8 g (25 mmoles) de carbonate de sodium. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 16 heures.

20

Après évaporation du tétrahydrofurane, le résidu est repris par 400 ml d'un mélange d'eau et de dichlorométhane (50-50 en volumes). La phase organique est décantée, séchée sur sulfate de sodium et concentrée à sec sous pression réduite. On obtient alors 7,5 g (88 %) de N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine, sous forme d'un solide jaune pâle dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 294°C
- spectre de RMN ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d6, δ en ppm) : 2,43 (s : 3H) ; 2,52 (s : 3H) ; 6,47 (s : 1H) ; 6,61 (mf : 2H) ; 7,62 (d large, J = 9 Hz : 1H) ; 7,69 (d, J = 9 Hz : 1H) ; 8,32 (mf : 1H) ; 10,80 (mf : 1H).

Synthèse en parallèle de N6-[(6-(méthyl-quinolin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)]-quinaldine-4,6-diamine (exemple 18-1)

Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,15 mmole) de N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine. Dans le premier tube (exemple 18-1), on ajoute successivement 5 ml de dioxane, 16 mg (0,15 mmole) de carbonate de sodium, 23 mg (0,15 mmole) d'iodure de sodium et 49 mg (0,3 mmole) de méthyl-quinolin-6-yl-amine. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux sous argon pendant 24 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est évaporé sous pression réduite, repris par 5 ml d'eau et 5 ml d'acétate d'éthyle et filtré. La phase organique est décantée, séchée et concentrée sous pression réduite. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18 Waters Xterra 3.5 μM , de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial (t_0 = 0 mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final (t_f = 4 mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 58 mg de trifluoroacétate de N6-[(6-(méthyl-quinolin-

6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

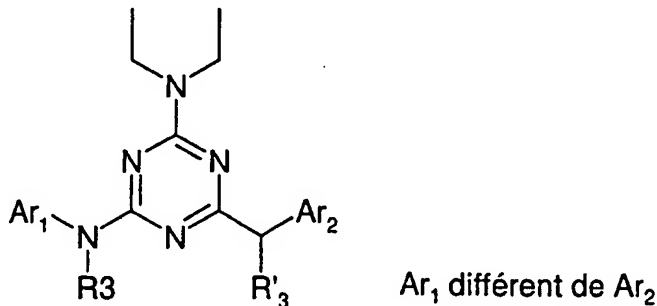
- spectre de masse (DAD-TIC) = 454 (M')
- temps de rétention = 2,51 mn (dans les conditions décrites ci-dessus pour la purification

5

Les exemples 18-1 à 18-13 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. L'exemple 17-1 peut également être obtenu en opérant comme ci-dessus. Les exemples 18-2 à 18-13 ont été isolés sous forme de base. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 18-1 à 18-13 sont résumées dans le tableau de résultats.

10

Exemple 19 : Synthèse en parallèle de dérivés asymétriquement substitués de 2-méthyl-N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinoline-4,6-diamine



15

Préparation de la N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

Dans un tricol de 1 litre, à une solution de 5 g (22,5 mmoles) de 2,6-dichloro-4-diéthylamino-triazine commerciale dans 300 ml de tétrahydrofurane, on ajoute successivement 3,91 g (22,5 mmoles) de 4,6-diamino-quinaldine et 2,4 g (22,5 mmoles) de carbonate de sodium. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 20 heures. Après évaporation du tétrahydrofurane, le résidu est repris par 400 ml d'un mélange d'eau et de dichlorométhane (50-

20

50 en volumes). La phase organique est décantée, séchée sur sulfate de sodium et concentrée à sec sous pression réduite. On obtient alors 7,4 g (92 %) de N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine, sous forme d'un solide jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

- 5 - point de fusion = 120° C
- spectre de RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm) : 1,14 (mt : 6H) ; 2,42 (s : 3H) ; de 3,50 à 3,70 (mt : 4H) ; 6,47 (s et mf : 3H en totalité) ; 7,54 (d large, J = 9 Hz : 1H) ; 7,67(dd, J = 9 et 2 Hz : 1H) ; 8,27 (mf : 1H) ; 10,09 (mf : 1H).

10 Synthèse en parallèle de N6-[(6-(pyrid-4-yl-amino)-4-diéthylamino-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine (exemple 19-2)

Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,13 mmole) de N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine. Dans le premier tube (exemple 19-2), on ajoute successivement 5 ml de DMF, 19 mg (0,14 mmole) de carbonate de potassium, 21 mg (0,14 mmole) d'iodure de sodium et 13 mg (0,14 mmole) de pyridin-4-yl-amine. Le milieu réactionnel est chauffé à 120°C sous argon pendant 16 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est évaporé sous pression réduite, repris par 5 ml d'eau, filtré et lavé avec de l'oxyde de diéthyle. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18 Waters Xterra 3.5 μM, de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial (t₀ = 0 mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final (t_f = 4 mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 44 mg de N6-[(6-(pyridin-4-yl-amino)-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- spectre de masse (DAD-TIC) = 415 (M⁺)

- temps de rétention = 0,82 mn (dans les conditions décrites ci-dessus pour la purification

Les exemples 19-1 à 19-2 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. L'exemple 19-1 a été isolé sous
5 forme sous forme de chlorhydrate après purification LC/MS par reprise dans une solution 1M d'acide chlorhydrique dans l'oxyde de diéthyle. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 19-1 et 19-2 sont résumées dans le tableau de résultats.

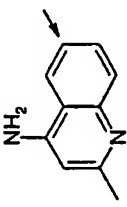
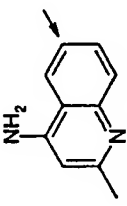
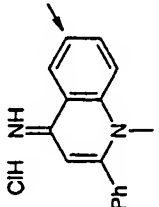
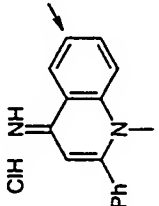
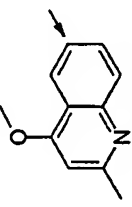
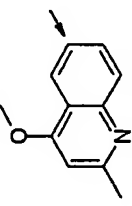
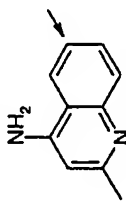
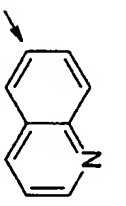
Exemple 20

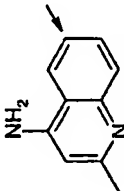
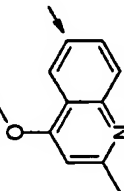
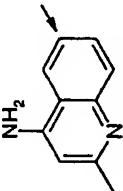
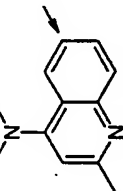
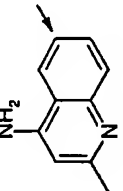
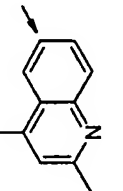
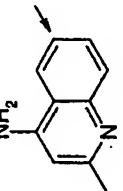
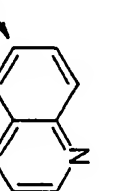
10 Les activités G-quartet, antitélomérase et cytotoxique des différents composés exemplifiés sont déterminées selon les protocoles opératoires décrits ci-avant.

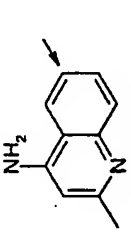
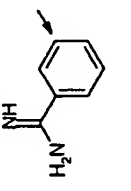
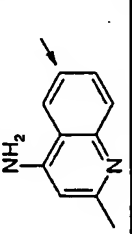
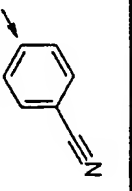
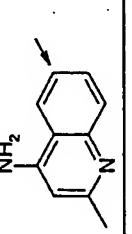
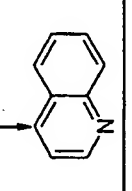
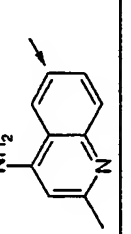
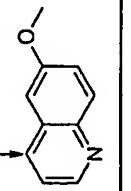
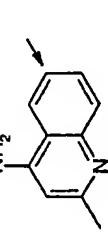
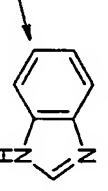
EXEMPLE	FLUORESCENCE T _m (°C)	Télomérase IC ₅₀ (μM)	Cytotox. A549 IC ₅₀ (μM)
1	-	0,25	0,59/1,9*
2	48°	0,056	4,7
3	52°	0,22	-
4	48°	0,51	3,1
5	57°	0,13	0,56/1,8*
6	44°	0,3	1,9
7	55°	0,89	4,9
8	-	0,051	9,1
9	-	0,74	0,53
10	-	0,24	3,6
11	57°	3	5,14
12	70°	0,041	0,44/1,1*
13	-	0,72	-
14	-	1,4/4,9*	6,5
15	53°	0,49	8,7
16	52°	2/4,5*	5,8
17-1	57	0,049	1,6
17-2	-	0,95	6,1
17-3	6	3,9	3,2
18-1	47	3,5	-
18-2	49	2,3	-
18-3	57	0,34	10

EXEMPLE	FLUORESCENCE T _m (°C)	Téломérase IC ₅₀ (μM)	Cytotox. A549 IC ₅₀ (μM)
18-5	47	3,4	-
18-6	50	2,6	10
18-7	51	3,3	8
18-8	49	3,4	-
18-9	51	3,4	9,5
18-10	49	3,3	10
18-11	48	3,3	1,3
18-12	-	2,8	-
18-13	-	3,4	-
19-1	58	1,0	1,5
19-2	53	2,5	-

* : résultats de deux expériences indépendantes

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amine	Masse M'	Temps de rétention
17-1	SMe		H		H	toluène	24 h./110°	0,5	469	2,95 mn
17-2	SMe		H		H	toluène	48 h./110°	0,75	621	2,21 mn
17-3	SMe		H		H	toluène	24 h./100°	0,5	499	3,02 mn
18-1	SMe		H		Me	dioxane	24 h./100°	0,3	454	2,51 mn

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chaufage	Nbre de mmoles d'ammine	Masse M [*]	Temps de rétention
18-2	SMe		H		H	dioxane	18 h./100°	0,3	484	2,91 mn
18-3	SMe		H		H	dioxane	24 h./100°	0,3	497	3,07 mn
18-4	SMe		H		H	dioxane	24 h./100°	0,3	468	3,02 mn
18-5	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0,3	440	3,20 mn

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amine	Masse M [*]	Temps de rétention
18-6	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0,3	431	2,85 mn
18-7	SMe		H		H	DMF	96 h./100°	0,6	414	3,60 mn
18-8	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0,3	440	2,94 mn
18-9	SMe		H		H	dioxane	72 h./100°	0,45	470	3,05 mn
18-10	SMe		H		H	dioxane	72 h./100°	0,45	429	2,84 mn

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₂	Ar ₂	R' ₁	Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amline	Masse M*	Temps de rétention
18-11	SMe		H		H	dioxane	24 h/100°	0,15	506	4,06 mn
18-12	SMe		H		H	dioxane	48 h/100°	0,3	418	2,85 mn
18-13	SMe		H		H	dioxane	72 h/100°	0,45	454	2,94 mn
19-1	N(Et) ₂		H		H	DMF	16 h/120°	0,21	465	1,03 mn
19-2	N(Et) ₂		H		H	DMF	16 h/120°	0,14	415	0,82 mn

REVENDEICATIONS

1 - Composés fixant la structure G-quadruplex des télomères caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule générale suivante :

cycle aromatique azoté - NR_3 - répartiteur - NR'_3 - cycle aromatique

5 dans laquelle

- le cycle aromatique azoté, représente :

- ◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte en C1-C4 ou

10

- ◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

- ◇ une benzamidine ou

15

- ◇ une pyridine

- le cycle aromatique représente

- ◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte en C1-C4 ou

20

- ◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

- ◇ une benzamidine ou

25

- ◇ une pyridine ou

- ◇ un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou

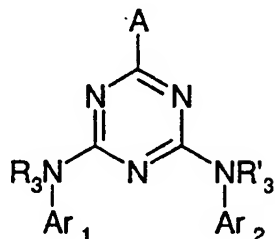
- plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4 ou
- 5 ◇ un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en
- 10 C1-C4 ou alkénylène en C2-C4
- R3 et R'3, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4
 - le répartiteur représente :
- 15 ◇ un groupe triazine éventuellement substitué par un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, un radical thio, oxy ou amino eux même éventuellement substitués par un ou plusieurs chaînes alkyle à chaîne courte contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un atome
- 20 d'halogène ou
- ◇ un groupe carbonyle ou
- ◇ un groupe C(=NH)-NH-C(=NH) ou
- ◇ un groupe alkylédiyle contenant 3 à 7 atomes de carbone ou
- 25 ◇ un groupe diazine éventuellement substitué par les mêmes groupes que la triazine

ou un de ses sels.

2 - Composés selon la revendication 1 caractérisés en ce que le répartiteur est choisi parmi les groupes triazine ou diazine.

- 30 3 - Composés selon la revendication 2 caractérisés en ce que les groupes diazines sont des pyrimidines.

4 - Composés selon la revendication 1 caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

5

- A représente

10

- un groupe amino de formule NR_1R_2 dans lequel R_1 et R_2 identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

- un groupe OR_1 ou SR_1 dans lequel R_1 a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou ou un groupe trifluorométhyle ou

- un atome d'hydrogène ou

15

- un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R_3 et R'_3 , identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4

- Ar_1 et Ar_2 identiques ou différents représentent

1. quand Ar_1 et Ar_2 sont identiques :

20

- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins

- un groupe $N(R_a)(R_b)$ dans lequel R_a et R_b identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou

25

- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou

- 5
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - une benzamidine ou
 - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents

- 10
- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
 - Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
- 15
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4
- 20
- * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes
- 25
- alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

ou un de ses sels.

5 - Composés selon la revendication 3 caractérisés en ce que Ar₁ et Ar₂ représentent un groupe choisi parmi les groupes suivants : 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino- quinolyl ou quinolinium dont le noyau

30

quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

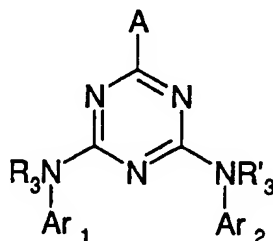
6 - Composés selon la revendication 1 caractérisé en ce que le groupe A représente le radical thiométhyl, amino, alkylamino ou dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4 atomes de carbone.

5 7 - Composés selon la revendication 2 caractérisés en ce que A représente un groupe méthylthio.

8 - Composés de la revendication 1 caractérisés en ce qu'ils ont une activité inhibitrice des télomérases.

9 - Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisés en ce qu'ils ont une activité anticancéreuse.

10 - Composés nouveaux répondant à la formule (I) suivante :



dans laquelle :

- A représente

- 15 • un groupe amino de formule NR₁R₂ dans lequel R₁ et R₂ identiques ou différents représentent un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou
- un groupe OR₁ ou SR₁ dans lequel R₁ représente l'hydrogène ou a la même signification que précédemment ou
- 20 • un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un groupe trifluorométhyle ou
- un atome d'hydrogène ou
- un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R³ et R'³, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4

- Ar₁ et Ar₂ identiques ou différents représentent

1. quand Ar₁ et Ar₂ sont identiques :

- 5
- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
- 10
- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - une benzamidine sauf dans le cas où A représente la
- 15
- diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine
 - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents

- 20
- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
 - Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
- 25
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro,
- 30
- alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

- 5 * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

- 10 11 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce quand Ar_1 et Ar_2 sont identiques, Ar_1 et Ar_2 représentent un groupe choisi parmi les groupes 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino- quinolyl ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

- 15 12 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce que R1 et R2 représentent l'hydrogène.

13 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce que A représente un groupe méthylthio.

- 20 14 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce quand Ar_1 et Ar_2 sont différents

1. Ar_1 représente :

- 25 • un motif quinoléine substitué par au moins
- un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

- une benzamidine sauf dans le cas où A représente la diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine ou
- une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle

5

2. Ar₂ représente

10

- * un noyau tel que défini ci-dessus mais différent ou
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, méthoxy, cyano, carbonylamino, guanyl, méthylthio, amino, méthylamino, diméthylamino, morpholine, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

15

- * un noyau quinoline, benzimidazole, indole, benzothiophène, benzofurane, benzothiazole, benzoxazole, carbazole, quinazoline, quinoxaline éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

20

ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinylo)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

15 - Composés selon la revendication 10 choisis parmi :

25

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldino)amino]-triazine

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldino)amino]-triazine

- le dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldino)amino]-triazine

30

- le trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinylo)amino]-triazine

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine
- le trichlorhydrate du dichlorure de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- 5 - le chlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine
- le dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine
- le dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- 10 - l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- le dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldiny)urée
- le diodure de N¹,N⁵-bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine
- 15 - le trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]pyrimidine
- le trichlorhydrate dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'-quinaldiny)biguanide
- le 6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-ylamino]-2-méthyl-quinolin-4-ol
- 20 - la N6-[4-(4-diméthylamino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine
- la N6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine
- 25 - la N6-[4-(4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-amine
- la N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(4-diméthylamino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(quinolyl-6-yl-amino)-4-diethylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

5 16 - Composés selon la revendication 15 choisis parmi :

- l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

- le dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

10 - le 6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-ylamino]-2-méthyl-quinolin-4-ol

- la N6-[4-(4-diméthylamino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine

15 - la N6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine

- la N6-[4-(4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-amine

- la N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

20 - la N6-[(6-(4-diméthylamino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(quinolyl-6-yl-amino)-4-diethylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

25 17 - Utilisation des composés de la revendication 10 comme produit pharmaceutique à usage humain.

18 - Associations thérapeutiques constituées d'un composé selon la revendication 1 et d'un autre composé anticancéreux.

19 - Associations selon la revendication 18 caractérisées en ce que le composé anticancéreux est choisi parmi les agents alkylants, les dérivés du platine, les agents antibiotiques, les agents antimicrotubules, les anthracyclines, les topoisomérases des groupes I et II, les fluoropyrimidines, 5 les analogues de cytidine, les analogues d'adénosine, les enzymes et composés divers tels que la L-asparaginase, l'hydroxyurée, l'acide trans-rétinoïque, la suramine, l'irinotecan, le topotecan, la dexrazoxane, l'amifostine, l'herceptin ainsi que les hormones oestrogéniques, androgéniques, les agents antivasculaires.

10 20 - Association thérapeutique constituée d'un composé selon la revendication 1 et de radiations.

21 - Associations selon l'une quelconque des revendications 18 à 20 caractérisées en ce que chacun des composés ou des traitements est administré simultanément, séparément ou séquentiellement.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/FR 00/03310

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D403/12 C07D251/18 C07D251/52 C07D251/54 A61K31/53
A61K31/506 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, EP0-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99 40087 A (THE BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 12 August 1999 (1999-08-12) cited in the application page 3, line 15 -page 27 ---	1-21
A	WO 93 20056 A (JARMAN MICHAEL ET AL.) 14 October 1993 (1993-10-14) the whole document ---	1-21
A	DE 198 12 879 A (BAYER AG ET AL.) 30 September 1999 (1999-09-30) the whole document ---	1-21
A	US 5 770 613 A (FEDERICO C. A. GAETA ET AL.) 23 June 1998 (1998-06-23) the whole document ---	1-21
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 March 2001

Date of mailing of the international search report

30/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kyriakakou, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Application No

PCT/FR 00/03310

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 08, 30 June 1999 (1999-06-30) & JP 11 060573 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 2 March 1999 (1999-03-02) abstract -----	1-21
A	ALFRED KREUTZBERGER ET AL.: "Synthese und spektroskopische Untersuchungen von Dianilinotriazinen" CHEMIKER ZEITUNG, vol. 114, no. 6, 1990, pages 208-210, XP002143260 the whole document -----	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

Int. .ional Application No
PCT/FR 00/03310

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9940087 A	12-08-1999	AU 2494799 A EP 1053237 A US 6156763 A	23-08-1999 22-11-2000 05-12-2000
WO 9320056 A	14-10-1993	AT 168105 T AU 676677 B AU 3894293 A DE 69319590 D DE 69319590 T DK 632805 T EP 0632805 A ES 2118945 T JP 7505380 T US 5534625 A US 5854244 A	15-07-1998 20-03-1997 08-11-1993 13-08-1998 12-11-1998 19-04-1999 11-01-1995 01-10-1998 15-06-1995 09-07-1996 29-12-1998
DE 19812879 A	30-09-1999	AU 2932899 A WO 9948877 A EP 1064271 A	18-10-1999 30-09-1999 03-01-2001
US 5770613 A	23-06-1998	NONE	
JP 11060573 A	02-03-1999	NONE	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De l' **le Internationale No**
PCT/FR 00/03310

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 C07D403/12 C07D251/18 C07D251/52 C07D251/54 A61K31/53 A61K31/506 A61P35/00		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 C07D		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) CHEM ABS Data, EPO-Internal, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 99 40087 A (THE BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 12 août 1999 (1999-08-12) cité dans la demande page 3, ligne 15 -page 27 ---	1-21
A	WO 93 20056 A (JARMAN MICHAEL ET AL.) 14 octobre 1993 (1993-10-14) le document en entier ---	1-21
A	DE 198 12 879 A (BAYER AG ET AL.) 30 septembre 1999 (1999-09-30) le document en entier ---	1-21
A	US 5 770 613 A (FEDERICO C. A. GAETA ET AL.) 23 juin 1998 (1998-06-23) le document en entier --- <div style="text-align: center;">-/--</div>	1-21
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>*A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>*E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>*L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>*O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>*P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>*X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>*Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>*Z* document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <div style="text-align: center; font-weight: bold;">22 mars 2001</div>		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <div style="text-align: center; font-weight: bold;">30/03/2001</div>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: center; font-weight: bold;">Kyriakakou, G</div>

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der. .e Internationale No

PCT/FR 00/03310

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 08, 30 juin 1999 (1999-06-30) & JP 11 060573 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 2 mars 1999 (1999-03-02) abrégé	1-21
A	ALFRED KREUTZBERGER ET AL.: "Synthese und spektroskopische Untersuchungen von Dianilino-triazinen" CHEMIKER ZEITUNG, vol. 114, no. 6, 1990, pages 208-210, XP002143260 le document en entier	1-21

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De: Je Internationale No

PCT/FR 00/03310

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9940087 A	12-08-1999	AU 2494799 A	23-08-1999
		EP 1053237 A	22-11-2000
		US 6156763 A	05-12-2000
WO 9320056 A	14-10-1993	AT 168105 T	15-07-1998
		AU 676677 B	20-03-1997
		AU 3894293 A	08-11-1993
		DE 69319590 D	13-08-1998
		DE 69319590 T	12-11-1998
		DK 632805 T	19-04-1999
		EP 0632805 A	11-01-1995
		ES 2118945 T	01-10-1998
		JP 7505380 T	15-06-1995
		US 5534625 A	09-07-1996
		US 5854244 A	29-12-1998
DE 19812879 A	30-09-1999	AU 2932899 A	18-10-1999
		WO 9948877 A	30-09-1999
		EP 1064271 A	03-01-2001
US 5770613 A	23-06-1998	AUCUN	
JP 11060573 A	02-03-1999	AUCUN	

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
7 juin 2001 (07.06.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/40218 A1

(51) Classification internationale des brevets?
C07D 403/12, 251/18, 251/52,
251/54, A61K 31/53, 31/506, A61P 35/00

(74) Mandataire: **LE PENNEC, Magali**; Aventis Pharma
S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron,
F-92165 Antony Cedex (FR).

(21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/03310

(81) États désignés (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,
TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Date de dépôt international:
27 novembre 2000 (27.11.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
99/15031 29 novembre 1999 (29.11.1999) FR
00/10561 11 août 2000 (11.08.2000) FR

(84) États désignés (*régional*): brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant: **AVENTIS PHARMA S.A.** [FR/FR]; 20, av-
enue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).

Publiée:

- Avec rapport de recherche internationale.
- Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.

(72) Inventeurs: **MAILLIET, Patrick**; 87, rue Dalayrac,
F-94120 Fontenay sous Bois (FR). **RIOU, Jean-François**;
8, avenue du Général Leclerc, F-75014 Paris (FR).
MERGNY, Jean-Louis; 25, rue Delescluze, F-94800
Villejuif (FR). **LAOUI, Abdelazize**; 80, rue de Coulmiers,
F-94130 Nogent sur Marne (FR). **LAVELLE, François**;
190, avenue Daumesnil, F-75012 Paris (FR). **PETIT-
GENET, Odile**; 31, rue du Moulin Vert, F-75014 Paris
(FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: **ARYLAMINE DERIVATIVES AND THEIR USE AS ANTI-TELOMERASE AGENT**

(54) Titre: **DERIVES ARYLAMINES ET LEUR APPLICATION COMME AGENT ANTITELOMERASE**

(57) Abstract: The invention concerns cancer therapy and novel anti-cancer agents having a very particular mechanism. The inven-
tion also concerns novel chemical compounds and their therapeutic use in humans.

(57) Abrégé: La présente invention est relative à la thérapie du cancer et concerne de nouveaux agents anticancéreux ayant un
mécanisme d'action bien particulier. Elle concerne aussi de nouveaux composés chimiques ainsi que leur application thérapeutique
chez l'homme.

WO 01/40218 A1

DERIVES ARYLAMINES ET LEUR APPLICATION COMME AGENT ANTITELOMERASE

La présente invention est relative à la thérapie du cancer et concerne de nouveaux agent anticancéreux ayant un mécanisme d'action bien particulier. Elle concerne aussi de nouveaux composés chimiques ainsi que leur application thérapeutique chez l'homme.

La présente invention concerne l'utilisation de nouveaux composés chimiques non nucléotidiques qui interagissent avec des structures spécifiques de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ces nouveaux composés sont constitués d'un agent répartiteur lié à deux groupes aminoaromatiques. Ces nouveaux composés sont utiles dans le traitement des cancers et agissent en particulier en tant qu'agents inhibiteurs de la télomérase. Ils sont particulièrement utiles pour stabiliser l'ADN en structure G-quadruplexe (tétrades de guanines). L'application thérapeutique de l'inhibition de la télomérase via la stabilisation de ces G-quadruplexes est l'arrêt de la mitose cellulaire et la mort des cellules à division rapide telles que les cellules cancéreuses et éventuellement l'induction de la sénescence des cellules cancéreuses.

Les composés de la présente invention présentent l'avantage du point de vue thérapeutique de bloquer la télomérase. Du point de vue biologique, la télomérase permet l'ajout de séquences d'ADN répétées du type T T A G G G, dites séquences télomériques, à l'extrémité du télomère, lors de la division cellulaire. Par cette action la télomérase rend la cellule immortelle. En effet, en l'absence de cette activité enzymatique, la cellule perd à chaque division 100 à 150 bases, ce qui la rend rapidement senescente. Lors de l'apparition de cellules cancéreuses à division rapide, il est apparu que ces cellules présentaient des télomères maintenus à une longueur stable au cours de la division cellulaire. Dans ces cellules cancéreuses il est apparu que la télomérase était fortement activée et qu'elle permettait l'addition de motifs répétés de séquences télomériques à la fin du télomère et permettait donc la conservation de la longueur du télomère dans les cellules cancéreuses. Il est apparu depuis quelques temps que plus de 85 % des cellules cancéreuses présentaient des tests positifs à la présence

de télomérase alors que les cellules somatiques ne présentent pas cette caractéristique.

Ainsi la télomérase est une cible très convoitée pour traiter les cellules cancéreuses. La première approche évidente pour bloquer la télomérase a été l'utilisation de structures nucléotidiques (Chen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(7), 2635-2639). Parmi les composés non nucléotidiques qui ont été utilisées dans l'art antérieur on peut citer les diaminoanthraquinones (Sun et al. J. Med. Chem. 40(14), 2113-6) ou les diethyloxadicarbocyanines (Wheelhouse R. T. Et al. J. Am. Chem. Soc. 1998(120) 3261-2).

Le brevet WO 99/40087 décrit l'utilisation de composés qui interagissent avec les structures G-quadruplexes qui sont des composés perylènes et des carbocyanines contenant au moins sept cycles dont deux hétérocycles.

Il est apparu de façon tout à fait surprenante que des structures simples permettaient d'obtenir un résultat au moins équivalent avec des structures beaucoup moins compliquées du point de vue chimique. Les composés de la présente invention qui répondent à l'objectif visé c'est-à-dire qui fixent la structure G-quadruplex et par ce fait présentent une activité inhibitrice des télomérases répondent à la formule générale suivante :

cycle aromatique azoté - NR_3 - répartiteur - NR'_3 - cycle aromatique
dans laquelle

- le cycle aromatique azoté, représente :

- ◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins
 - un groupe $N(Ra)(Rb)$ dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte en C1-C4 ou
- ◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
- ◇ une benzamidine ou

- ◇ une pyridine
- le cycle aromatique représente
 - ◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents
5 représentent l'hydrogène ou un radical alkyle et/ou alkoxy à chaîne courte en C1-C4 et/ou
 - ◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - ◇ une benzamidine ou
 - 10 ◇ une pyridine ou
 - ◇ un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en
15 C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4 ou
 - ◇ un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition
20 qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4
- R3 et R'3, identiques ou différents, représentent
25 indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4
- le répartiteur représente :
 - ◇ un groupe triazine éventuellement substitué par un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, un radical
30 thio, oxy ou amino eux même éventuellement substitués par un ou plusieurs chaînes alkyle à chaîne courte

contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un atome d'halogène ou

◊ un groupe carbonyle ou

◊ un groupe $C(=NH)-NH-C(=NH)$ ou

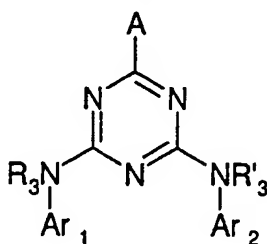
5 ◊ un groupe alkylédiyle contenant 3 à 7 atomes de carbone ou

◊ un groupe diazine éventuellement substitué par les mêmes groupes que la triazine

ou un de ses sels.

10 On entend au sens de la formule ci-dessus par cycle aromatique azoté un hétérocycle comportant au moins un atome d'azote ou un groupe aromatique ne comportant pas d'hétéroatome dans le cycle mais contenant au moins un atome d'azote dans une chaîne hydrocarbonée liée au cycle comme par exemple une chaîne guanidino ou guanyl.

15 On préfère parmi l'ensemble des composés ci-dessus inclus utiliser ceux comportant comme répartiteur un groupe triazine ou diazine. Parmi les groupes diazines on préfère utiliser les pyrimidines. Parmi les triazines on préfère les composés répondant à la formule (I) ci-dessous :



20 dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule NR_1R_2 dans lequel R_1 et R_2 identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

25 • un groupe OR_1 ou SR_1 dans lequel R_1 a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou
ou un groupe trifluorométhyle ou
 - un atome d'hydrogène ou
 - un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le
brome ou l'iode
- 5
- R³ et R'³, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4.
- Ar₁ et Ar₂ identiques ou différents représentent
1. quand Ar₁ et Ar₂ sont identiques :
- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
- 10
- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- 15
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - une benzamidine ou
- 20
- une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4
2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents
- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
- 25
- Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
 - * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou
- 30

5 plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

10 * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

ou un de ses sels.

15 Il est évident que les motifs quinoléines peuvent être substitués par tout autre groupe n'intervenant pas dans l'application visée, ainsi des groupes acridines ou isoquinoléines ou quinazoles ou quinoxalines ou phtalazines ou benzothiazines ou benzoxazines ou phénoxazines ou phénothiazines sont inclus dans la définition des groupes quinoléines.

20 On préfère parmi les composés de formule (I) ci-dessus ceux qui comportent deux hétérocycles choisis parmi les groupes 4-aminoquinolyl, 4-aminoquinolinium ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

En ce qui concerne les groupes A, ils représentent de préférence le radical méthylthio, amino, alkylamino ou dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4 atomes de carbone.

25 On peut citer à titre de composés représentatifs de la formule (I) les composés suivants :

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

30 - le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

- le dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

- le trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine
- 5 - le trichlorhydrate du dichlorure de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- le chlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine
- le trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- 10 - le trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-(p-amidinoanilino)-triazine,
- le dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldiny) amino]-triazine
- le dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- 15 - l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldiny) amino]-triazine
- le dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldiny)urée
- le diodure de N¹,N⁵-bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine
- 20 - le trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldiny) amino]pyrimidine
- le trichlorhydrate dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'quinaldiny)biguanide
- le 6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-ylamino]-2-méthyl-quinolin-4-ol
- 25 - la N6-[4-(4-diméthylamino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine
- la N6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine

- la N6-[4-(4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-amine

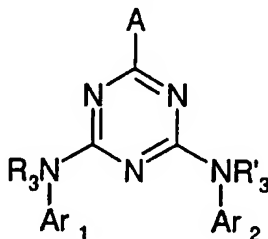
- la N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

5 - la N6-[(6-(4-diméthylamino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(quinolyl-6-yl-amino)-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

10 On préfère tout particulièrement l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl) amino]-triazine.

Un autre objet de la présente invention concerne les composés de formule (I) en tant que produits chimiques nouveaux. Il concerne donc les produits nouveaux répondant à la formule (I) suivante :



15 dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule NR_1R_2 dans lequel R_1 et R_2 identiques ou différents représentent un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

20 • un groupe OR_1 ou SR_1 dans lequel R_1 représente l'hydrogène ou a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un groupe trifluorométhyle ou

- un atome d'hydrogène ou

25 • un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R_3 et R'_3 , identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4

- Ar₁ et Ar₂ identiques ou différents représentent

1. quand Ar₁ et Ar₂ sont identiques :

- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins
- 5 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- 10 • une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
- une benzamidine sauf dans le cas où A représente la diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine
- 15 • une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents

- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
- 20 • Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
 - * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou
 - 25 plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4
 - 30 * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition

qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

- 5 ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

En effet le premier de ces deux composés est décrit dans une publication parue sous la référence Indian Journal of Animal Sciences 43(4),
10 pages 226-29 comme agent antitrypanosome pour l'animal et en aucun cas comme agent antitélomérase et le second est aussi décrit comme agent antitrypanosome dans J. Chem. Soc., 1960, 4525

Les composés de formule (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels Ar₁ et Ar₂ représentent un groupe choisi parmi les motifs suivants :
15 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino-quinolyl ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

Les composés de formule générale (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels A représente un groupe amino ou diméthylamino ou plus préférentiellement méthylthio.

20 On préfère tout particulièrement les composés de formule (I) pour lesquels lorsque Ar₁ et Ar₂ sont différents :

1. Ar₁ représente :

- un motif quinoléine substitué par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb
25 identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme
30 quaternaire ou

- une benzamidine sauf dans le cas où A représente la diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine ou
- une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle

5

2. Ar₂ représente

10

- * un noyau tel que défini ci-dessus mais différent ou
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, méthoxy, cyano, carbonylamino, guanyl, méthylthio, amino, méthylamino, diméthylamino, morpholine, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

15

- * un noyau quinoline, benzimidazole, indole, benzothiophène, benzofurane, benzothiazole, benzoxazole, carbazole, quinazoline, quinoxaline éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

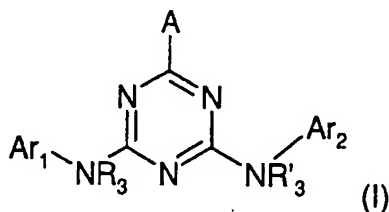
20

ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation des composés de la formule (I) comme produit pharmaceutique à usage humain.

Les procédés de préparation des composés de formule (I)

25



sont décrits ci-après.

Méthode générale 1

Selon un premier procédé de préparation des composés de formule générale (I) dans lesquels Ar_1 et Ar_2 d'une part et R_3 et R'_3 d'autre part sont identiques et définis tels que précédemment et R représente un atome d'halogène tel que chlore ou fluor, une fonction amino, alkylamino ou dialkylamino dont les parties alkyles droites ou ramifiées contiennent de 1 à 4 atomes de carbone, alkyloxy ou alkylthio dont les parties alkyles droites ou ramifiées contiennent de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent être obtenus par amination d'une dihalogénotriazine, très généralement une dichloro-s-triazine, de formule générale (B) dans laquelle A est défini comme ci-dessus par une amine aromatique ou hétéroaromatique de formule générale (C) dans laquelle Ar est défini comme précédemment en opérant selon le schéma 1 :

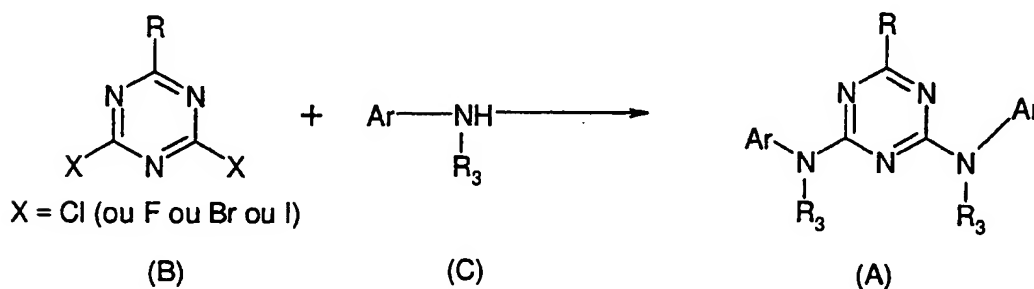


Schéma 1

Dans le cas où A représente un atome d'halogène, il est utile de faire réagir la 2,4,6-trihalogéno-s-triazine correspondante de formule générale (B) avec l'amine aromatique ou hétéroaromatique $ArNHR_3$ de formule générale (C).

On opère généralement en condensant une mole de dihalogéno-s-triazine, ou trihalogéno-s-triazine, avec 2 moles d'amine aromatique ou hétéroaromatique. La réaction a lieu en milieu inerte dans les conditions de la réaction. On peut citer parmi les solvants inertes l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux comme l'éthanol, ou un solvant halogéné tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyne ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. On opère de préférence à une température comprise entre 20°C et le reflux, en présence notamment d'une base organique, telle que la

triéthylamine, ou minérale, telle que la soude ou le carbonate de sodium ou de potassium. Il est également possible de ne pas utiliser de base lors de la réaction d'amination, et d'isoler un chlorhydrate du produit de formule générale (A), dont la base peut ensuite être libérée.

- 5 Les dihalogéno ou trihalogéno-s-triazines de formule générale (B) sont soit commerciales soit connues, et peuvent être obtenues dans les conditions décrites dans la littérature.

- 10 Les amines aromatiques ou hétéroaromatiques de formule générale (C) sont soit connues, soit peuvent être préparées aisément par les méthodes connues de synthèse d'amines aromatiques ou hétéroaromatiques.

- 15 Dans le cas où Ar_1 et Ar_2 sont différents, la triazine de formule générale (A) peut être obtenue par déplacement séquentiel des atomes d'halogène, très généralement des atomes de chlore, des produits de formule générale (B) par les amines Ar_1NHR_3 puis $Ar_2NHR'_3$ de formule générale (C) selon le schéma 2 :

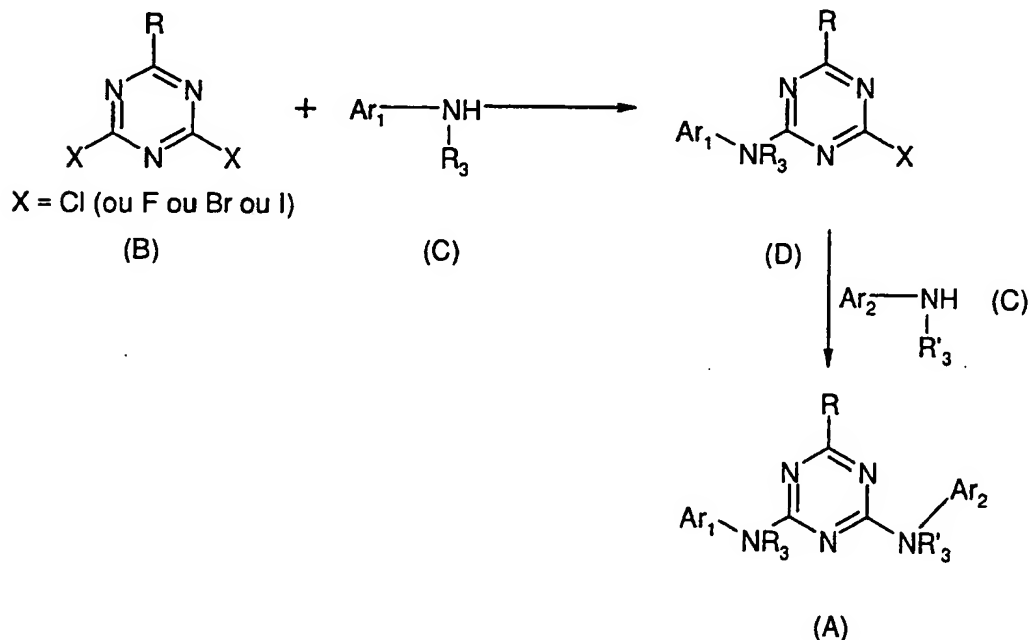


Schéma 2

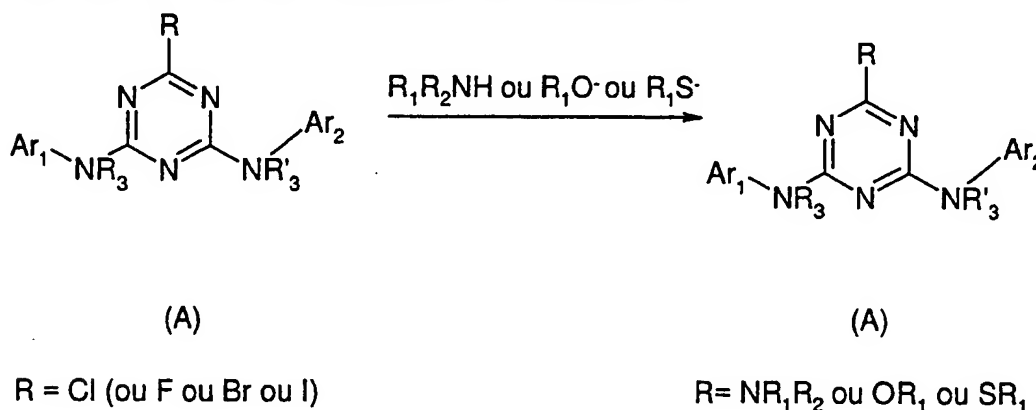
- 20 Généralement on opère avec 1 mole de dihalogéno-s-triazine, ou trihalogéno-s-triazine, et 1 mole d'amine Ar_1NHR_3 . On préfère opérer dans un

solvant inerte tel que l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux, comme l'éthanol, ou un solvant halogéné, tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyle ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. Selon une

- 5 meilleure manière de mettre en oeuvre l'invention on opère à une température comprise entre 20°C et 50°C. Ensuite on ajoute 1 mole d'amine $\text{Ar}_2\text{NHR}'_3$ au produit de formule générale (D), qui peut être éventuellement isolé. On opère notamment à une température comprise entre 50°C et le reflux.
- 10 Avantageusement, on peut opérer dans les conditions décrites dans J. Fluor. Chem., 1988, 39(1), 117-123.

Méthode générale 2

- Selon une seconde méthode les produits de formule générale (A) dans lesquels Ar_1NHR_3 et $\text{Ar}_2\text{NHR}'_3$ sont définis tels que précédemment et R
- 15 représente un groupe NR_1R_2 ou OR_1 ou SR_1 peuvent être également préparés par déplacement nucléophile d'un atome d'halogène, généralement un atome de chlore, d'un produit de formule générale (A) dans lequel R représente un atome d'halogène selon le schéma 3 :



20

Schéma 3

- On opère généralement en condensant 1 mole de produit de formule générale (A) dans lequel R représente un atome d'halogène, préférentiellement un atome de chlore, avec 1 mole d'amine $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}$ ou d'alcoolate R_1O^- ou de thioalcoolate R_1S^- . La réaction a lieu en milieu inerte
- 25 dans les conditions de la réaction. On peut citer parmi les solvants inertes

- l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux comme l'éthanol, ou un solvant halogéné tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthane ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. Lorsque le groupe entrant
- 5 représente un groupe R_1R_2NH , on opère de préférence à une température comprise entre $20^{\circ}C$ et le reflux, en présence notamment d'une base organique, telle que la triéthylamine, ou minérale, telle que la soude ou le carbonate de sodium ou de potassium. Il est également possible de ne pas
- 10 utiliser de base lors de la réaction d'amination, et d'isoler un chlorhydrate du produit de formule générale (A), dont la base peut ensuite être libérée. Lorsque le groupe entrant représente un groupe R_1O ou R_1S on opère préférentiellement avec un alcoolate ou un thioalcoolate alcalin ou alcalinoterreux, tel qu'un sel de sodium ou de potassium ou de lithium ou d'ammonium ou de césium ou de baryum, dans un solvant aprotique polaire
- 15 tel que le DMF ou le DMSO ou la NMP, à une température comprise entre $50^{\circ}C$ et le reflux.

Méthode générale 3

- Selon un troisième procédé de préparation les composés pour lesquels R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle, droit ou
- 20 ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent également être préparés par condensation d'un bisguanide de formule générale (E), dans lequel Ar_1 et Ar_2 d'une part et R_3 et R'_3 d'autre part sont identiques ou différents, avec un dérivé d'acide, préférentiellement un chlorure d'acide ou un ester de méthyle de formule générale (F) selon le schéma 4 :

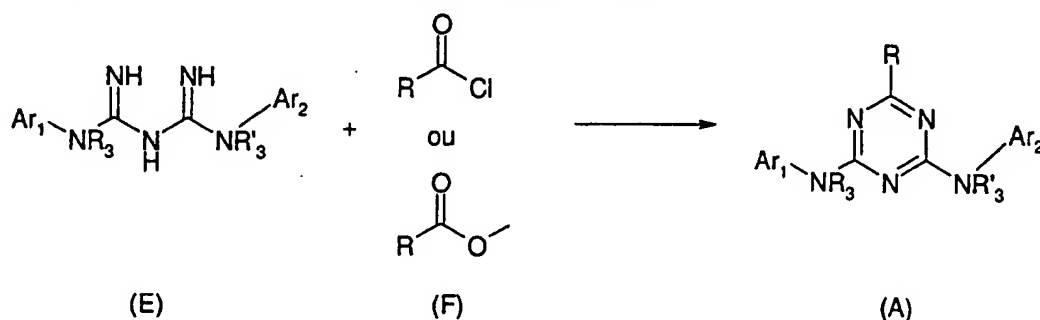


Schéma 4

La condensation entre le bisguanide de formule générale (E) et le dérivé d'acide de formule générale (F) est effectuée généralement dans un alcool comme le méthanol ou l'éthanol. On préfère opérer à une température comprise entre 0°C et la température de reflux.

- 5 Les bisguanides de formule générale (E) symétriques ou dissymétriques peuvent être obtenus en opérant dans les conditions décrites dans la littérature et en particulier selon le brevet J.P. 94-4993.

Méthode générale 4

- 10 Les produits de formule générale (A), dans lesquels Ar₁ et Ar₂ sont identiques, définis comme précédemment et représentés par Ar, et où R représente un groupe alkyle, droit ou ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent également être préparés par condensation d'une cyanoguanidine de formule générale (G), dans laquelle Ar est défini comme précédemment, avec un nitrile de formule générale (H) selon le schéma 4 :

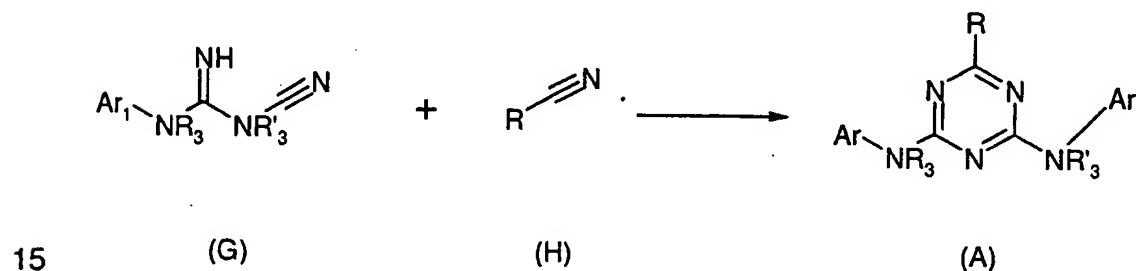


Schéma 5

- 20 La condensation de la cyanoguanidine de formule générale (G) avec le nitrile de formule générale (H) est notamment effectuée en opérant au reflux d'un solvant polaire à haut point d'ébullition tel que le 2-méthoxy-éthanol ou le 1,2-diméthoxyéthane.

Les cyanoguanidines de formule générale (G) peuvent être préparées dans les conditions décrites dans la littérature.

- 25 Il est entendu que les s-triazines de formule générale peuvent être obtenues sous forme de bibliothèques, en appliquant les méthodes décrites dans les schémas 1, 2, 3, 4 ou 5 en chimie parallèle et/ou combinatoire en phase liquide ou en phase solide, étant entendu que, lorsqu'on travaille en phase solide, l'un quelconque des réactifs est préalablement fixé sur un support

solide, choisi en fonction de la réaction chimique mise en jeu, et que ladite réaction chimique est suivie d'une opération de clivage du produit de la réaction du support solide.

5 La présente invention concerne aussi les compositions thérapeutiques contenant un composé selon l'invention, en association avec un support pharmaceutiquement acceptable selon le mode d'administration choisi. La composition pharmaceutique peut se présenter sous forme solide, liquide ou de liposomes.

10 Parmi les compositions solides on peut citer les poudres, les gélules, les comprimés. Parmi les formes orales on peut aussi inclure les formes solides protégées vis-à-vis du milieu acide de l'estomac. Les supports utilisés pour les formes solides sont constitués notamment de supports minéraux comme les phosphates, les carbonates ou de supports organiques comme le lactose, les celluloses, l'amidon ou les polymères. Les formes liquides sont
15 constituées de solutions de suspensions ou de dispersions. Elles contiennent comme support dispersif soit l'eau, soit un solvant organique (éthanol, NMP ou autres) ou de mélanges d'agents tensioactifs et de solvants ou d'agents complexants et de solvants.

20 La dose administrée des composés de l'invention sera adaptée par le praticien en fonction de la voie d'administration du patient et de l'état de ce dernier.

Les composés de la présente invention peuvent être administrés seuls ou en mélange avec d'autres anticancéreux. Parmi les associations possibles on peut citer

- 25
- les agents alkylants et notamment le cyclophosphamide, le melphalan, l'ifosfamide, le chlorambucil, le busulfan, le thiotepa, la prednimustine, la carmustine, la lomustine, la semustine, la steptozotocine, la decarbazine, la témozolomide, la procarbazine et l'hexaméthylmélamine
- 30
- les dérivés du platine comme notamment le cisplatine, le carboplatine ou l'oxaliplatine
 - les agents antibiotiques comme notamment la bléomycine, la mitomycine, la dactinomycine,

- les agents antimicrotubules comme notamment la vinblastine, la vincristine, la vindésine, la vinorelbine, les taxoïdes (paclitaxel et docétaxel)
- 5 • les anthracyclines comme notamment la doxorubicine, la daunorubicine, l'idarubicine, l'épirubicine, la mitoxantrone, la losoxantrone
- les topoisomérases des groupes I et II telles que l'étoposide, le teniposide, l'amsacrine, l'irinotecan, le topotecan et le tomudex,
- 10 • les fluoropyrimidines telles que le 5-fluorouracile, l'UFT, la floxuridine,
- les analogues de cytidine telles que la 5-azacytidine, la cytarabine, la gemcitabine, la 6-mercaptopurine, la 6-thioguanine
- les analogues d'adénosine telles que la pentostatine, la
- 15 cytarabine ou le phosphate de fludarabine
- le méthotrexate et l'acide folinique
- les enzymes et composés divers tels que la L-asparaginase, l'hydroxyurée, l'acide trans-rétinoïque, la suramine, la dexrazoxane, l'amifostine, l'herceptin ainsi que les hormones
- 20 oestrogéniques, androgéniques
- les agents antivasculaires tels que les dérivés de la combretastatine ou de la colchicine et leur prodrug.

Il est également possible d'associer aux composés de la présente invention un traitement par les radiations. Ces traitements peuvent être

25 administrés simultanément, séparément, séquentiellement. Le traitement sera adapté au malade à traiter par le praticien.

L'activité de stabilisation des G-quadruplexes peut être déterminée par une méthode utilisant la formation d'un complexe avec la fluoresceine dont le protocole expérimental est décrit ci-après.

Oligonucléotides

Tous les oligonucléotides, modifiés ou non, ont été synthétisés par Eurogentec SA, Seraing, Belgique. L'oligonucléotide FAM + DABCYL porte la référence catalogue, OL-0371-0802. Il possède la séquence:

5 GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG correspondant à 3.5 répétitions du motif télomérique humain (brin riche en G). La fluoresceine est attaché à l'extrémité 5', le DABCYL à l'extrémité 3', par les bras chimiques décrit par Eurogentec. La concentration des échantillons est vérifiée par spectrophotométrie, en enregistrant le spectre d'absorbance entre 220 et

10 700 nm et en utilisant le coefficient d'extinction molaire fourni par le fournisseur.

Tampons

Toutes les expériences ont été réalisées dans un tampon cacodylate de sodium 10 mM pH 7.6 contenant 0.1 M de Chlorure de Lithium (ou de

15 Chlorure de Sodium). L'absence de contamination fluorescente dans le tampon a été préalablement vérifiée. L'oligonucléotide fluorescent est ajouté à la concentration finale de 0.2 μ M.

Etude de Fluorescence

Toutes les mesures de fluorescence ont été effectuées sur un

20 appareil Spex Fluorolog DM1B, en utilisant une largeur de raie d'excitation de 1.8 nm et une largeur de raie d'émission de 4.5 nm. Les échantillons sont placés dans une cuvette en quartz micro de 0.2 x 1 cm. La température de l'échantillon est contrôlée par un bain-marie extérieur. L'oligonucléotide seul a été analysé à 20, 30, 40, 50, 60, 70 et 80°C. Les spectres d'émission sont

25 enregistrés en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 470 nm. Les spectres d'excitation sont enregistrés en utilisant soit 515 nm soit 588 nm comme longueur d'onde d'émission. Les spectres sont corrigés de la réponse de l'instrument par des courbes de référence. Une extinction importante (80-90 %) de la fluorescence de la fluoresceine à température ambiante est

30 observée, en accord avec un repli intramoléculaire de l'oligonucléotide à 20°C sous forme d'un G-quadruplex, ce qui induit une juxtaposition de ses extrémités 5' et 3', respectivement liées à la fluoresceine et au DABCYL.

Cette juxtaposition entraîne un phénomène déjà décrit d'extinction de fluorescence, utilisé pour les "Molecular Beacons".

T_m en fluorescence

Une solution stock d'oligonucléotide à la concentration en brin de 0.2 μ M dans un tampon 0.1 M LiCl 10 mM cacodylate pH 7.6 est préalablement préparée, chauffée brièvement à 90°C et refroidie lentement à 20°C, puis distribuée par aliquots de 600 μ l dans les cuves de fluorescence. 3 μ l d'eau (pour le contrôle) ou 3 μ l du produit à tester (stock à 200 μ M, concentration finale 1 μ M) sont alors ajoutés et mélangés. Les échantillons sont alors laissés à incuber pendant au moins 1 heure à 20°C avant chaque mesure. L'utilisation de temps d'incubation plus longs (jusqu'à 24 heures) n'a pas d'influence sur le résultat obtenu.

Chaque expérience ne permet que la mesure d'un seul échantillon. Celui-ci est d'abord incubé à une température initiale de 20°C, porté à 80°C en 38 minutes, laissé 5 minutes à 80°C, puis refroidi à 20°C en 62 minutes. Durant ce temps, la fluorescence est mesurée simultanément à deux longueurs d'onde d'émission (515 nm et 588 nm) en utilisant 470 nm comme longueur d'onde d'excitation. Une mesure est effectuée toutes les 30 secondes. La température du bain-marie est enregistrée en parallèle, et le profil de fluorescence en fonction de la température est reconstitué à partir de ces valeurs. Les profils de fluorescence sont ensuite normalisés entre 20°C et 80°C, et la température pour laquelle l'intensité d'émission à 515 nm est la moyenne de celles à haute et basse température est appelée T_m. Dans ces conditions, le T_m de l'échantillon de référence sans addition de produit est de 44°C dans un tampon Chlorure de Lithium. Cette température est portée à plus de 55°C dans un tampon Chlorure de Sodium. L'addition d'un composé stabilisant le G-quadruplex induit une augmentation du T_m. Cette augmentation est jugée significative si elle est supérieure à 3°.

L'activité biologique antitélomérase est déterminée par le protocole expérimental suivant :

Préparation de l'extrait enrichi en activité télomérase humaine

La lignée de leucémie HL60 est obtenue auprès de l'ATCC (American Type Culture Collection, Rockville USA). Les cellules sont

cultivées en suspension dans du milieu RPMI 1640 contenant, L-Glutamine à 2 mM, Pénicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml, gentamycine 50 µg/ml et additionné de 10 % de sérum foetal de veau inactivé par la chaleur.

- 5 Une aliquote de 10^5 cellules est centrifugée à 3000xG et le surnageant écarté. Le culot de cellules est resuspendu par plusieurs pipettages successifs dans 200 µl de tampon de lyse contenant CHAPS 0.5 %, Tris-HCl pH 7,5 10 mM, $MgCl_2$ 1mM, EGTA 1 mM, β -mercaptoéthanol 5 mM, PMSF 0.1 mM et glycérol 10 % et est conservé dans la glace pendant 30 minutes. Le lysat est centrifugé à 16 000xG pendant 20 minutes à 4°C et
- 10 160 µl du surnageant est récupéré. Le dosage des protéines de l'extrait est effectué par la méthode de Bradford. L'extrait est conservé à -80°C.

Dosage de l'activité télomérase

- L'inhibition de l'activité télomérase est déterminée par un protocole d'extension de l'oligonucléotide TS ($5'AATCGTTCGAGCAGAGTT^3$), en
- 15 présence d'un extrait cellulaire enrichi en activité télomérase et des composés qui sont ajoutés à différentes concentrations (10, 1, 0.1 et 0,01 µM). La réaction d'extension est suivie d'une amplification PCR des produits d'extension à l'aide des oligonucléotides TS et CXext ($5'GTGCCCTTACCCTTACCCTTACCCTAA^3$).

- 20 Le milieu réactionnel est préparé selon la composition suivante :

	Tris HCl pH 8,3	20 mM
	MgCl ₂	1,5 mM
	Tween 20	0,005 % (P/V)
	EGTA	1 mM
25	dATP	50 µM
	dGTP	50 µM
	dCTP	50 µM
	dTTP	50 µM
	Oligonucléotide TS	2 µg/ml
30	Oligonucléotide CXext	2 µg/ml

	Sérum Albumine bovine	0,1 mg/ml
	Taq DNA polymérase	1 U/ml
	alpha 32P dCTP (3000 Ci/mmmole)	0.5 µl
	Extrait télomérase	200 ng sous un volume de 10 µl
5	Produit à tester ou solvant	sous un volume de 5 µl
	Eau bi-distillée QS	50 µl

Les oligonucléotides sont obtenus auprès d'Eurogentec (Belgique) et sont conservés à -20°C à une concentration stock de 1 mg/ml dans de l'eau distillée.

- 10 Les échantillons réactionnels sont assemblés dans des tubes à PCR de 0.2 ml et une goutte d'huile de paraffine est déposée sur chacune des réactions de l'expérience avant la fermeture des tubes.

Les échantillons réactionnels sont ensuite incubés dans un appareil à PCR de type Cetus 4800 selon les conditions de températures suivantes :

- 15 15 minutes à 30°C,
1 minute à 90°C,
suivis de 30 cycles de,
30 secondes à 94°C,
30 secondes à 50°C,
20 et 1 minute 30 secondes à 72°C,
suivis d'un cycle final de 2 minutes à 72°C.

Pour chacun des échantillons, une aliquote de 10 µl est pipetée sous la couche d'huile et mélangée avec 5 µl d'un tampon de dépôt contenant :

	TBE	3X
25	glycérol	32 % (P/V)
	Bleu de bromophénol	0.03 %
	Xylène cyanol	0.03 %

Les échantillons sont ensuite analysés par électrophorèse en gel d'acrylamide 12 % dans un tampon TBE 1X pendant 1 heure sous une tension de 200 volts, à l'aide d'un système d'électrophorèse Novex.

- 5 Les gels d'acrylamides sont ensuite séchés sur une feuille de papier Whatmann 3 mm à 80°C pendant 1 heure.

L'analyse et la quantification des produits de la réaction sont effectuées à l'aide d'un appareil InstantImager (Pacard).

- 10 Pour chaque concentration de composé testée, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la réaction et calculés à partir du contrôle enzymatique non traité et de l'échantillon sans enzyme (blanc) selon la formule suivante :

$$\left(\frac{\text{Valeur Composé} - \text{valeur blanc}}{\text{Valeur contrôle enzymatique} - \text{valeur blanc}} \right) \times 100.$$

- 15 La concentration de composé induisant une inhibition de 50 % de la réaction télomérase (IC50) est déterminée à l'aide d'une représentation graphique semi logarithmique des valeurs d'inhibition obtenues en fonction de chacune des concentrations de composé testée.

- 20 On considère qu'un composé est actif en tant qu'agent antitélomérase lorsque la quantité inhibant 50 % de la réaction télomérase est notamment inférieure à 5 µM.

L'activité biologique cytotoxique sur des lignées de tumeur humaines est déterminée selon le protocole expérimental suivant :

- 25 Les lignées de cellules humaines A549 sont originaires de l'ATCC (American Type Culture Collection, Rockville USA). Les cellules A549 sont cultivées en couche en flacon de culture dans du milieu RPMI 1640, L-Glutamine à 2 mM, Pénicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur. Les cellules KB sont cultivées en couche en flacon de culture dans du milieu de Dulbelco's contenant, L-Glutamine à 2 mM, Pénicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur.
- 30

Les cellules en phase exponentielles de croissances sont trypsinées, lavées dans du PBS 1X et sont ensemencées en microplaques 96 puits (Costar) à raison de 4×10^4 cellules/ml pour A549 et de $1,5 \times 10^4$ cellules/ml (0.2 ml/puit) puis incubées pendant 96 heures en présence de concentrations variables de produit à étudier (10, 1, 0.1 et 0.01 μ M, chaque point en quadruplicata). 16 heures avant la fin de l'incubation, 0.02 % final de rouge neutre est ajouté dans chaque puits. A la fin de l'incubation, les cellules sont lavées par du PBS 1X et lysées par 1 % de lauryl sulfate de sodium. L'incorporation cellulaire du colorant, qui reflète la croissance cellulaire, est évaluée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540 nm pour chaque échantillon à l'aide d'un appareil de lecture Dynatech MR5000.

Pour chaque concentration de composé testée, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de croissance cellulaire et calculés à partir du contrôle non traité et du milieu de culture sans cellules (blanc) selon la formule suivante :

$$(\text{Valeur Composé} - \text{valeur blanc} / \text{Valeur contrôle cellules} - \text{valeur blanc}) \times 100$$

La concentration de composé induisant une inhibition de 50 % de la croissance (IC50) est déterminée à l'aide d'une représentation graphique semi logarithmique des valeurs d'inhibition obtenues en fonction de chacune des concentrations de composé testée.

On considère qu'un composé est actif comme agent cytotoxique si la concentration inhibitrice de 50 % de la croissance des cellules tumorales testées est notamment inférieure à 10 μ M.

Les exemples suivants et non limitatifs sont donnés pour illustrer l'invention.

Exemple 1

Préparation du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine

Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 200 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 41,6 g (0,16 mol) de chlorhydrate du chlorure de 1-méthyl-4,6-diaminoquinaldinium, qui peut-être obtenu selon J. Chem. Soc.,

1953, 50. On obtient une solution limpide jaune foncée où l'on coule 800 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité. On porte à 45°C pour dissoudre, puis on ajoute 13,2 g (0,08 mol) de 2-amino-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 662. Après
5 quelques minutes, un précipité jaune apparaît, et on chauffe à reflux 1 heure. On refroidit et on laisse une nuit en glacière. Le précipité obtenu est filtré et lavé par quatre fois 100 cm³ de d'éthanol aqueux à 80 % puis séché à 45°C. On obtient ainsi 47 g (100 %) de monochlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine.

10 Libération et purification de la forme base

Dans un tricol de 2 dm³, on ajoute 1,2 dm³ d'eau distillée puis 47 g du monochlorhydrate obtenu ci-dessus, on porte à 55°C et on coule 30 cm³ d'ammoniaque concentré (d=0,925), puis on chauffe à 85°C pour favoriser la solubilisation. Un insoluble est filtré à chaud sur 40 g de Supercel et lavé par
15 trois fois 50 cm³ d'eau bouillante. Après concentration du filtrat au demi, et nouvelle filtration sur 10 g de Supercel, on ajoute 1,2 dm³ d'éthanol et on agite 5 minutes, puis laisse au repos une nuit en glacière. Au matin, on filtre, on lave par trois fois 50 cm³ d'éthanol à 66 % et par deux fois 50 cm³ d'éthanol, on sèche sous vide à 45°C, et l'on obtient 34,2 g (79 %) de
20 dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine brut. Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 600 cm³ d'eau distillée et les 34,2 g de base brute, sous agitation on porte à 50°C jusqu'à dissolution presque totale, et on filtre l'insoluble. Le filtrat résultant est chargé dans un tricol de 3 dm³, sous agitation on coule rapidement 1,4 dm³ d'éthanol. Le
25 précipité blanchâtre gélatineux obtenu est filtré, lavé par trois fois 100 cm³ d'éthanol, séché sous vide à 45°C, et l'on obtient 30,7 g (71 %) de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine, sous la forme d'un solide blanc dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 334°C.
- 30 - spectre RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ en ppm) : 2,72 (s : 6H) ; 4,01 (s : 6H) ; 6,79 (s : 2H) ; 7,09 (mf : 2H) ; 8,11 (d, J = 10 Hz : 2H) ; 8,21 (dd, J = 10 et 2 Hz : 2H) ; de 8,40 à 8,75 (mf étalé : 4H) ; 9,01 (s large : 2H) ; 9,83 (mf : 2H).

Exemple 2

Préparation du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 75 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 16,45 g (0,06 mol) de chlorhydrate du chlorure de 1-éthyl-4,6-diamino-quinaldinium, qui peut être obtenu selon le brevet U.S. 2 585 905, puis on coule 300 cm³ d'éthanol. On porte à 55°C, puis on ajoute 4,95 g (0,03 mol) 2-amino-4,6-dichloro-triazine et on chauffe à reflux 2 heures et demie. On refroidit et on laisse une nuit en glacière. Le précipité obtenu est filtré, lavé par 100 cm³ d'éthanol à 80 % puis séché à 45°C. On obtient ainsi 16,47 g (91 %) de monochlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine.

Libération et purification de la forme base

Dans un ballon de 250 cm³ contenant 200 cm³ d'eau distillée, sous agitation on charge les 16,47 g de monochlorhydrate obtenu précédemment et on coule 8 cm³ d'ammoniaque concentré (d=0,925), on porte à reflux pour favoriser la solubilisation. On filtre à chaud sur Supercel un léger insoluble qu'on lave par deux fois 10 cm³ d'eau bouillante. Après concentration du filtrat au demi, on ajoute sous agitation 350 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité blanc, laissé une nuit en glacière. Le précipité est filtré, lavé par cinq fois 10 cm³ d'éthanol à 80 %, séché sous vide à 55°C, et l'on obtient 12,87 g (76 %) du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinio) amino]-triazine, sous forme d'une poudre blanche hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 302°C
- spectre RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ en ppm) : 1,42 (t, J = 7 Hz : 6H) ; 2,74 (s : 6H) ; 4,57 (q, J = 7 Hz : 4H) ; 6,80 (s : 2H) ; 7,09 (mf : 2H) ; 8,13 (d, J = 10 Hz : 2H) ; 8,21 (dd, J = 10 et 2 Hz : 2H) ; de 8,40 à 8,75 (mf étalé : 4H) ; 9,01 (s large : 2H) ; 9,83 (mf : 2H).

Exemple 3Préparation du dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 60 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 13,01 g (0,05 mol) du chlorhydrate du chlorure de 1-méthyl-4,6-diamino-quinaldinium, qui peut être obtenu selon J. Chem. Soc., 1953, 50. On obtient une solution jaune où l'on coule 240 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité jaune. Après dissolution par chauffage à 50°C, on ajoute 4,83 g (0,025 mol) de 2-diméthylamino-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 3726. Après quelques minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 1 heure et demie. On refroidit 1 heure dans un bain de glace, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par quatre fois 30 cm³ d'éthanol et séché. On obtient 12,92 g (86 %) de dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 345°C
- spectre RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ en ppm) : 2,72 (s : 6H) ; 3,18 (s : 6H) ; 4,00 (s : 6H) ; 6,75 (s : 2H) ; 8,12 (d, J = 9,5 Hz : 2H) ; 8,22 (mt : 2H) ; de 8,40 à 8,65 (mf étalé : 4H) ; 8,79 (s large : 2H) ; 9,83 (mf : 2H).

Exemple 4Préparation du trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldiny) amino]-triazine

Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 34 cm³ d'eau distillée et 126 cm³ d'acide chlorhydrique normal, et on charge sous agitation 21,82 g (0,1 mol) de 4,6-diaminoquinaldine, qui peut être obtenue selon J. Chem. Soc., 1953, 50. A la solution orangée obtenue, on coule 600 cm³ d'éthanol, on porte à 65°C, puis on ajoute 10,74 g (0,06 mol) de 2-méthylamino-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon Chem. Berichte, 1899, 32, 700, et on coule 40 cm³ d'éthanol. Un précipité jaune apparaît qui s'épaissit rapidement en chauffant à reflux 2 heures. Après refroidissement une nuit en glacière, le précipité obtenu est filtré, lavé par trois fois 120 cm³ d'éthanol à 80 %, séché

et on obtient 27,3 g (81 %) de trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'une poudre blanche hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 340°C
- 5 - spectre RMN. ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d6, δ en ppm) : 2,62 (s large : 6H) ; 2,94 (s large : 3H) ; 6,64 (s large : 2H) ; de 7,60 à 7,80 (mf étalé : 1H) ; 7,89 (d large, $J = 9,5$ Hz : 2H) ; 8,10 (d large, $J = 9,5$ Hz : 2H) ; de 8,35 à 8,65 (mf étalé : 4H) ; de 8,70 à 8,95 (mf étalé : 2H) ; de 9,80 à 10,00 (mf étalé : 2H) ; 13,76 (mf : 2H).

10 **Exemple 5**

Préparation du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine

15 Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 225 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 41,5 g (0,18 mol) de chlorhydrate de chlorure de 1-méthyl-6-aminoquinoléinium, qui peut être obtenu selon Zh.Org.Khim. ; 1993, 29(10), 2018.

20 On obtient une solution jaune où on coule 900 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité. Après dissolution par chauffage à 50°C, on ajoute 14,8 g (0,09 mol) de 2-amino-4,6-dichloro-triazine, et on chauffe à reflux 1 heure, un précipité jaune apparaît rapidement. On refroidit une nuit dans la glacière, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par deux fois 50 cm³ d'éthanol, séché et on obtient 36,6 g (79 %) de monochlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine.

Libération et purification de la forme base

25 Dans un tricol de 1 dm³, on ajoute 200 cm³ d'eau distillée, puis on charge sous agitation les 36,6 g de monochlorhydrate obtenu précédemment, on porte à 80°C et on coule 10 cm³ d'ammoniaque concentré ($d=0,925$), et on filtre un insoluble sur Supercel. Dans un tricol de 6 dm³, contenant 3 dm³ d'éthanol, on coule sous agitation en 5 minutes le filtrat

30 précédent, un fin précipité jaune vif apparaît, qui est laissé 2 jours en glacière, puis filtré, lavé par deux fois 50 cm³ d'éthanol, séché et on obtient 19,1 g (44 %) de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)

amino]-triazine, sous forme d'une poudre jaune hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 296°C

- spectre RMN ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d6, δ en ppm) : 4,64 (s : 6H) ;
5 7,11 (mf : 2H) ; 8,10 (dd, J = 8,5 et 6 Hz : 2H) ; 8,46 (d, J = 10 Hz : 2H) ;
8,56 (dd, J = 10 et 2 Hz : 2H) ; 9,17 (d large, J = 8,5 Hz : 2H) ; 9,30 (mt :
4H) ; 10,26 (mf : 2H).

Exemple 6

10 Préparation du trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine

Etape A : Préparation de la 4-méthylamino-6-amino-quinaldine

Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 240 cm³ d'acide acétique et on charge sous agitation 57,4 g (0,25 mol) de 6-acétamido-4-méthoxy-quinaldine préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 4065. On fait
15 barboter sous agitation de la méthylamine jusqu'à saturation, puis on porte à reflux 2 heures. On refroidit, et fait de nouveau l'opération précédente, on refroidit, et on coule sous agitation la solution obtenue dans un tricol de 2 dm³, contenant 300 cm³ d'eau distillée et 470 cm³ d'acide chlorhydrique normal. On chauffe alors à 100°C pendant 11 heures puis on laisse une nuit
20 en glacière. Le produit cristallisé est filtré, donnant 25 g de chlorhydrate, les liqueurs mères sont concentrées, laissées une nuit en glacière puis filtrées pour donner de nouveau 150 g de chlorhydrate. Les 175 g de chlorhydrate sont repris par 300 cm³ d'eau distillée et dissous par chauffage à 50°C, traités par 1 g de noir et filtrés sur Supercel. On porte le filtrat à 90°C et on
25 alcalinise par addition de 54 cm³ de soude concentrée. Le précipité obtenu par refroidissement la nuit en glacière est lavé par quatre fois 100 cm³ d'eau distillée, séché et on obtient 33 g (70 %) du 4-méthylamino-6-amino-quinaldine

Etape B

30 Dans un tricol de 2 dm³, on introduit 25 cm³ d'eau distillée et 101 cm³ d'acide chlorhydrique normal, et on charge 18.9 g (0,101 mol) de 4-méthylamino-6-amino quinaldine, la solution orangée obtenue est portée à

- 75°C, puis on coule en 2 minutes 500 cm³ d'éthanol, et on ajoute d'un coup 8,59 g (0,048 mol) 2-méthylamino-4,6-dichloro-triazine, préparée selon l'exemple 4. Après 5 minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 2 heures, on laisse refroidir sous agitation 3 heures et on abandonne 8 jours en glacière. Le précipité obtenu est filtré, lavé par deux fois 100 cm³ d'éthanol à 80 % et par trois fois 100 cm³ d'éthanol, séché et on obtient 21,7 g (77 %) du trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique dont les caractéristiques sont les suivantes :
- point de fusion = 355°C
 - spectre RMN. ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm) : 2,68 (s : 6H) ; 2,93 (s : 3H) ; 3,04 (mf : 6H) ; 6,59 (s : 2H) ; de 7,40 à 7,70 (mf étalé : 1H) ; 7,88 (d, J = 9 Hz : 2H) ; 8,08 (d large, J = 9 Hz : 2H) ; de 8,50 à 8,95 (mf étalé : 2H) ; de 8,75 à 8,95 (mf : 2H) ; de 9,70 à 10,10 (mf étalé : 2H) ; 13,79 (mf : 2H).

Exemple 7

Préparation du chlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine

Etape A : Préparation de la 2-acétamido-9-amino-acridine

- Dans un tricol de 250 cm³, on introduit 72 cm³ d'acide acétique et on charge sous agitation 12 g (0,0575 mol) de 2,9-diaminoacridine, préparée selon J. Chem. Soc., 1949, 1148, puis on coule 4,1 cm³ (0,0575 mol) de chlorure d'acétyle. La température monte à 50°C et la solution se prend en masse. On maintient à 60°C pendant 1 heure, on refroidit et on dilue par 200 cm³ d'oxyde de diéthyle. Par filtration, on obtient 15,2 g de chlorhydrate. Dans un ballon de 4 dm³, on introduit 2 dm³ d'eau distillée et on charge sous agitation les 15,2 g de chlorhydrate. On porte à reflux, on filtre et on alcalinise par l'ammoniaque. La base cristallise, est filtrée et séchée. On obtient 11,2 g (78 %) de 2-acétamido-9-amino-acridine.

Etape B : Préparation du sulfate de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 300 cm³ de nitrobenzène puis successivement sous agitation 11,2 g (0,0446 mol) de 2-acétamido-9-amino
5 acridine et 11 cm³ (0,116 mol) de sulfate de diméthyle. On porte ensuite à 140°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, on filtre le précipité obtenu, qui est lavé par 20 cm³ de nitrobenzène et six fois 20 cm³ d'oxyde de diéthyle, séché à l'air et l'on obtient 14,35 g (85 %) de sulfate de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium.

10 Etape C : Préparation du chlorhydrate du chlorure de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium.

Dans un ballon de 2 dm³, on introduit 600 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 13 g de sulfate de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium (0,0344 mol), on porte à reflux jusqu'à dissolution presque
15 complète et on filtre l'insoluble. Après refroidissement, on coule 900 cm³ d'une solution aqueuse à 35 % de chlorure de sodium, on laisse précipiter et on filtre. Dans un ballon de 100 cm³, on introduit 20 cm³ d'acide chlorhydrique concentré (d=1,18) et on charge le composé précédent que l'on porte 5 minutes à reflux, on dilue par 67 cm³ d'éthanol et on laisse cristalliser dans
20 la glace. Les cristaux formés sont filtrés, lavés par deux fois 5 cm³ d'éthanol et par trois fois 10 cm³ d'oxyde de diéthyle, séchés et on obtient 5,1 g (50 %) de chlorhydrate du chlorure de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium.

Etape D

Dans un tricol de 100 cm³, on introduit 5 cm³ d'eau distillée et 37 cm³
25 d'éthanol et on charge sous agitation 1 g (0,00338 mol) du chlorhydrate du chlorure de 2-acétamido-9-amino-10-méthyl-acridinium, on porte à 80°C et on ajoute 0,28 g (0,0017 mol) de 2-amino-4,6-dichloro-triazine. Après 5 minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 2 heures, puis on laisse refroidir, on filtre, on lave par trois fois 3 cm³ d'éthanol et par 5 cm³ d'éther, on
30 sèche sous vide et on obtient 0,8 g (73 %) du chlorhydrate de dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine, sous forme

d'une poudre ocre jaune hygroscopique dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 310°C

Exemple 8

- 5 Préparation du trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine (la base correspondante est aussi appelée SURFENE C)

10 Dans un tricol de 10 dm³, on introduit 5,25 dm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 368,4 g (2,127 mol) de 4,6-diaminoquinaldine, préparée selon l'exemple 4, puis on ajoute 117 g (0,709 mol) 2-amino-4,6-dichloro-triazine. Un précipité jaune se forme immédiatement, on porte à reflux 2 heures. Après refroidissement et acidification à pH=3,4 par addition de 1,3 dm³ d'acide chlorhydrique normal, on porte à reflux 15 minutes, on ajoute 20 g de noir et on maintient le reflux 10 minutes, puis on filtre. Dans un tricol de 10 dm³, on introduit la solution précédente que l'on porte à 80°C, puis on coule en 30 minutes 852 cm³ d'acide chlorhydrique (d=1,19). En fin de coulée, un précipité jaune pâle apparaît, qui, après refroidissement au bain de glace, est filtré, lavé par quatre fois 250 cm³ d'une solution d'acide chlorhydrique, composée de 250 cm³ d'acide chlorhydrique (d=1,19) et de 2 dm³ d'eau distillée, puis séché sous vide à 60°C et on obtient 385,4 g (99 %) trichlorhydrate. Dans un tricol de 4 dm³, on introduit 1,9 dm³ d'éthanol et on charge 385,4 g précédents et on agite 5 heures à température ambiante à l'abri de la lumière, on filtre puis on lave par deux fois 250 cm³ d'éthanol et sèche ; on obtient 346 g (89 %) du trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 345°C

Exemple 9

Trichlorhydrate de 2-amino-bis-4,6-(p-amidinoanilino)-triazine

- 30 Ce produit peut être obtenu selon J. Chem. Soc., 1960, 4525 sous forme d'une poudre crème hygroscopique.

Exemple 10Préparation du dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine

Dans un tricol de 1 dm³, on introduit 60 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 13,01 g (0,05 mol) du chlorhydrate du chlorure de 1-méthyl-4,6-diaminoquinaldinium, qui peut être obtenu selon J. Chem. Soc., 1953, 50. On obtient une solution jaune où l'on coule 240 cm³ d'éthanol, provoquant un abondant précipité jaune. Après dissolution par chauffage à 50°C, on ajoute 4,90 g (0,025 mol) de 2-méthylthio-4,6-dichlorotriazine, qui peut être préparée selon Ang. Chem. Int Ed., 1966, 5, 960. Après quelques minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux une heure et demie. On refroidit une nuit à la glacière, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par quatre fois 30 cm³ d'éthanol et séché. On obtient 10,70 g (75 %) de dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine, sous forme d'une poudre crème hygroscopique, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 320°C

Exemple 11Préparation du dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyloxy)amino]-triazineEtape A : Préparation de la 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine

On opère comme à l'étape A de l'exemple 6, mais à partir de 57,4 g (0,25 mol) de 6-acétamido-4-méthoxy-quinaldine, préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 4065, et de 100 cm³ d'une solution aqueuse à 40 % de diméthylamine dans 250 cm³ d'acide acétique chauffés à 100°C pendant 2 heures dans un autoclave de 1 dm³. On obtient alors, après purification acide-base en opérant comme à l'étape A de l'exemple 6, 38,71g (77 %) de 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine.

Etape B

Dans un tricol de 25 cm³, on dissout 402 mg (2 mmoles) de 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine dans 7 cm³ d'acide acétique, puis on ajoute en 2 minutes 184 mg (1 mmole) de chlorure de cyanuryle puis on chauffe à 90°C pendant 3 heures. Après refroidissement, les cristaux formés sont essorés, lavés par 2,5 cm³ d'acide acétique et séchés sous vide à 100°C. On obtient ainsi 588 mg (94 %) de dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme de cristaux jaune-pâles dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 350°C
- analyse élémentaire : % C = 51,75 (calc = 52,06) ; % H = 5,67 (calc = 5,50) ; % N = 19,98 (calc = 20,23) _

Exemple 12

Préparation de l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

Dans un tricol de 250 cm³, on introduit 100 cm³ d'éthanol aqueux à 90 % et on charge sous agitation 4,02 g (0,02 mol) de 4-diméthylamino-6-amino-quinaldine préparée à l'étape A de l'exemple 11 et 1,96 g (0,01 mol) de 2-méthylthio-4,6-dichloro-triazine, qui peut être préparée selon Ang. Chem. Int. Ed., 1966, 5, 960. Après quelques minutes, un précipité apparaît et on porte à reflux 1 heure et demie. On refroidit une nuit à la glacière, puis on filtre le précipité obtenu qui est lavé par quatre fois 30 cm³ d'éthanol et séché. On obtient 5,26 g (88 %) de chlorhydrate brut.

Dans un tricol de 250 cm³, on ajoute 75 cm³ d'éthanol aqueux à 90 %, puis on charge sous agitation les 5,26 g de chlorhydrate obtenu précédemment, on porte à 80°C et on coule 5 cm³ d'ammoniaque concentré (d = 0,925), et on laisse cristalliser 2 jours à la glacière. On filtre, on lave par deux fois 5 cm³ d'éthanol aqueux à 90 %, on sèche et l'on obtient 3,20 g (59,5 %) d'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine, sous forme d'un solide jaune pâle dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 280-3°C

- analyse élémentaire : % C = 62,06 (calc = 62,48) ; % H = 5,81 (calc = 62,48) ; % N = 23,80 (calc = 23,42).

Exemple 13

Préparation du dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldinyl)urée

5 (la base correspondante, aussi appelée SURFENE peut être préparée selon Ang. Chem 1939, 891)

Dans un tricol de 500 cm³, on introduit 400 cm³ d'eau distillée et on charge sous agitation 30 g (0,2 mol) de 4,6-diaminoquinaldine, qui peut être préparée selon J. Chem. Soc., 1953, 50, puis on ajoute 8,4 g (0,06 mol) d'acétate de sodium trihydrate et on chauffe à 95-96°C. On fait alors passer
10 un courant de phosgène jusqu'à saturation (5 à 10 minutes), puis on maintient à 95-96°C pendant 1 heure. Après refroidissement et acidification par addition de 200 cm³ d'acide chlorhydrique 6 N, le précipité formé est essoré, lavé par 200 cm³ d'acide chlorhydrique N et séché sous vide à 60°C,
15 on obtient ainsi 30 g de chlorhydrate brut, qui est recristallisé dans 300 cm³ d'eau distillée et 30 cm³ d'acide chlorhydrique concentré en présence de noir. Après refroidissement, les cristaux formés sont essorés, lavés à l'acide chlorhydrique N, puis à l'acétone et séché sous vide à 40°C. On obtient ainsi
20 27 g (60,5 %) du dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldinyl)urée, sous forme d'une poudre crème hygroscopique dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 329-40°C

Exemple 14

Préparation du diiodure de N¹,N⁵-bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine

25 On dissout, par chauffage vers 50°C, 3 g (7 mmoles) de N¹,N⁵-bis(7-chloroquinoléin-4-yl)pentane-1,5-diamine, qui peut être préparée selon J. Med. Chem. 1992, 35, 2129, dans 60 cm³ de butan-2-one. On ajoute 3 g (21 mmoles) d'iodure de méthyle et on porte au reflux pendant 5 heures. Les
30 cristaux formés sont essorés, lavés à la butan-2-one puis à l'oxyde de diéthyle et séchés sous vide. On obtient ainsi 3 g (60 %) de diiodure de N¹,N⁵-

bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine, sous forme de cristaux beiges dont la caractéristique est la suivante :

- point de fusion = 277-78°C.

Exemple 15

5 Préparation du trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]pyrimidine

10 Dans un tricol de 250 cm³, on porte à reflux 1,73 g (10 mmoles) de 4,6-diamino-1-méthyl-quinoléine, qui peut être obtenue selon J. Chem. Soc., 1953, 50, et 0,74 g de 2,4-dichloropyrimidine dans 75 cm³ d'éthanol et 5 cm³ d'eau pendant 5 heures. Le milieu réactionnel est concentré de moitié, puis
15 laissé à cristalliser à la glacière pendant une nuit. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éthanol puis à l'oxyde de diéthyle et séché sous vide. Le précipité obtenu est agité 6 heures dans 10 cm³ d'acide chlorhydrique 0,2 N, puis essoré, lavé à l'eau et séché sous vide à 80°C. On obtient ainsi 0,98 g
20 (46,5 %) de trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]pyrimidine, sous forme d'un solide jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 310-20°C

25 - analyse élémentaire : % C = 47,37 (calc = 47,46) ; % H = 5,51
30 (calc = 5,67) ; % N = 18,41 (calc = 18,45) ; % Cl = 15,84 (calc = 15,76)

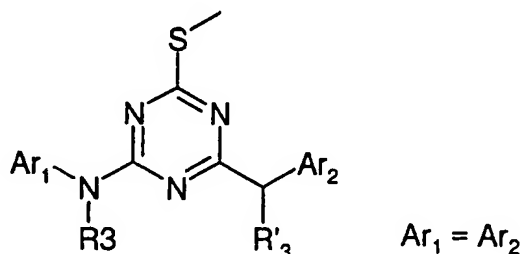
Exemple 16

Préparation du trichlorhydrate dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'-quinaldinyl)biguanide

25 Dans un tricol de 25 cm³, on ajoute 5 cm³ d'eau, 3 cm³ d'acide chlorhydrique 5N, 1,3 g (7,5 mmoles) de 4,6-diamino-quinaldine, qui peut être obtenue selon J. Chem. Soc., 1953, 50, et 0,34 g (3,75 mmoles) de dicyanamide de sodium et on porte à 50-55°C pendant une nuit. Après refroidissement, le précipité formé est essoré, lavé à l'eau glacée et séché sous vide à 70°C. On obtient ainsi 0,47 g (22,5 %) de trichlorhydrate
30 dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'-quinaldinyl)biguanide, sous forme de cristaux jaunes dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 262-66°C
- analyse élémentaire : % C = 47,85 (calc = 47,56) ; % H = 5,67 (calc = 5,38) ; % N = 22,96 (calc = 22,69) ; % Cl = 18,79 (calc = 19,14).

Exemple 17 : Synthèse en parallèle de dérivés substitués symétriques de 2,4-diamino-6-méthylthio-triazine



Synthèse en parallèle de N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine (exemple 17-1)

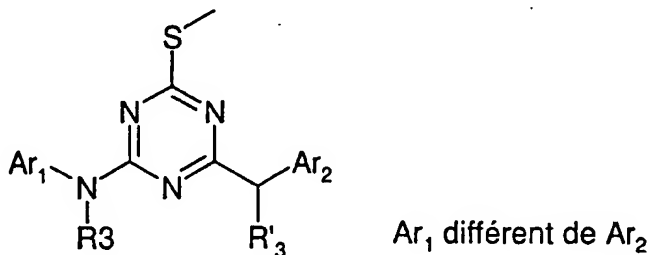
- Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type
- 10 STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,25 mmole) de 2,6-dichloro-6-méthylthio-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 662. Dans le premier tube (exemple 17-1), on ajoute successivement 5 ml de toluène, 0,5 ml d'une solution N de soude aqueuse et 88 mg (0,5 mmole) de
- 15 4,6-diamino-quinaldine. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux sous argon pendant 24 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est dilué avec 5 ml d'eau et 5 ml de dichlorométhane. La phase organique est décantée, séchée et concentrée sous pression réduite. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18
- 20 Waters Xterra 3.5 μ M, de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial ($t_0 = 0$ mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final ($t_f = 4$ mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 28 mg de N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-

méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- spectre de masse (DAD-TIC) = 459 (M⁺)
- temps de rétention = 2,95 mn (dans les conditions décrites ci-dessus pour la purification)

Les exemples 17-1 à 17-3 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. L'exemple 17-1 a été isolé sous forme de base et sous forme de chlorhydrate, les exemples 17-2 et 17-3 ont été isolés uniquement sous forme de chlorhydrate après purification LC/MS par reprise dans une solution 1M d'acide chlorhydrique dans l'oxyde de diéthyle. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 17-1 à 17-3 sont résumées dans le tableau de résultats.

Exemple 18 : Synthèse en parallèle de dérivés asymétriquement substitués de N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine



Préparation de la N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

Dans un tricol de 1 litre, à une solution de 5 g (25 mmoles) de 2,6-dichloro-6-méthylthio-triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 662, dans 400 ml de tétrahydrofurane, on ajoute successivement 4,4 g (25 mmoles) de 4,6-diamino-quinaldine et 2,8 g (25 mmoles) de carbonate de sodium. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 16 heures.

Après évaporation du tétrahydrofurane, le résidu est repris par 400 ml d'un mélange d'eau et de dichlorométhane (50-50 en volumes). La phase organique est décantée, séchée sur sulfate de sodium et concentrée à sec sous pression réduite. On obtient alors 7,5 g (88 %) de N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine, sous forme d'un solide jaune pâle dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 294°C
- spectre de RMN ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d6, δ en ppm) : 2,43 (s : 3H) ; 2,52 (s : 3H) ; 6,47 (s : 1H) ; 6,61 (mf : 2H) ; 7,62 (d large, J = 9 Hz : 1H) ; 7,69 (d, J = 9 Hz : 1H) ; 8,32 (mf : 1H) ; 10,80 (mf : 1H).

Synthèse en parallèle de N6-[(6-(méthyl-quinolin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine (exemple 18-1)

Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,15 mmole) de N6-(6-amino-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine. Dans le premier tube (exemple 18-1), on ajoute successivement 5 ml de dioxane, 16 mg (0,15 mmole) de carbonate de sodium, 23 mg (0,15 mmole) d'iodure de sodium et 49 mg (0,3 mmole) de méthyl-quinolin-6-yl-amine. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux sous argon pendant 24 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est évaporé sous pression réduite, repris par 5 ml d'eau et 5 ml d'acétate d'éthyle et filtré. La phase organique est décantée, séchée et concentrée sous pression réduite. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18 Waters Xterra 3.5 μM , de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial (t_0 = 0 mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final (t_1 = 4 mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 58 mg de trifluoroacétate de N6-[(6-(méthyl-quinolin-

6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

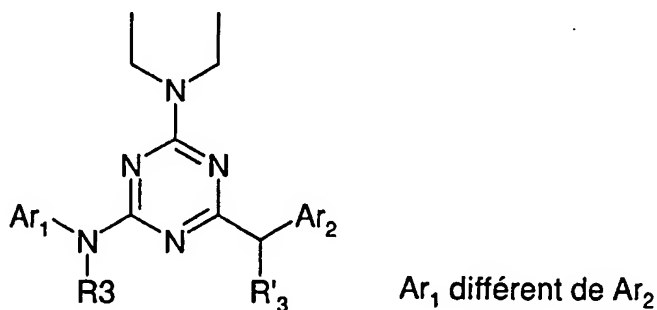
- spectre de masse (DAD-TIC) = 454 (M⁺)
- temps de rétention = 2,51 mn (dans les conditions décrites ci-dessus pour la purification

5

Les exemples 18-1 à 18-13 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. L'exemple 17-1 peut également être obtenu en opérant comme ci-dessus. Les exemples 18-2 à 18-13 ont été isolés sous forme de base. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 18-1 à 18-13 sont résumées dans le tableau de résultats.

10

Exemple 19 : Synthèse en parallèle de dérivés asymétriquement substitués de 2-méthyl-N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinoline-4,6-diamine



15

Préparation de la N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

Dans un tricol de 1 litre, à une solution de 5 g (22,5 mmoles) de 2,6-dichloro-4-diéthylamino-triazine commerciale dans 300 ml de tétrahydrofurane, on ajoute successivement 3,91 g (22,5 mmoles) de 4,6-diamino-quinaldine et 2,4 g (22,5 mmoles) de carbonate de sodium. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 20 heures. Après évaporation du tétrahydrofurane, le résidu est repris par 400 ml d'un mélange d'eau et de dichlorométhane (50-

20

50 en volumes). La phase organique est décantée, séchée sur sulfate de sodium et concentrée à sec sous pression réduite. On obtient alors 7,4 g (92 %) de N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine, sous forme d'un solide jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

5 - point de fusion = 120° C

 - spectre de RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm) : 1,14 (mt : 6H) ; 2,42 (s : 3H) ; de 3,50 à 3,70 (mt : 4H) ; 6,47 (s et mf : 3H en totalité) ; 7,54 (d large, J = 9 Hz : 1H) ; 7,67(dd, J = 9 et 2 Hz : 1H) ; 8,27 (mf : 1H) ; 10,09 (mf : 1H).

10 Synthèse en parallèle de N6-[(6-(pyrid-4-yl-amino)-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine (exemple 19-2)

Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,13 mmole) de N6-(6-amino-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine. Dans le premier tube (exemple 19-2), on ajoute succesivement 5 ml de DMF, 19 mg (0,14 mmole) de carbonate de potassium, 21 mg (0,14 mmole) d'iodure de sodium et 13 mg (0,14 mmole) de pyridin-4-yl-amine. Le milieu réactionnel est chauffé à 120°C sous argon pendant 16 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est évaporé sous pression réduite, repris par 5 ml d'eau, filtré et lavé avec de l'oxyde de diéthyle. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18 Waters Xterra 3.5 μM, de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial (t₀ = 0 mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final (t_f = 4 mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 44 mg de N6-[(6-(pyridin-4-yl-amino)-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

 - spectre de masse (DAD-TIC) = 415 (M⁺)

- temps de rétention = 0,82 mn (dans les conditions décrites ci-dessus pour la purification

- Les exemples 19-1 à 19-2 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. L'exemple 19-1 a été isolé sous
- 5 forme sous forme de chlorhydrate après purification LC/MS par reprise dans une solution 1M d'acide chlorhydrique dans l'oxyde de diéthyle. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 19-1 et 19-2 sont résumées dans le tableau de résultats.

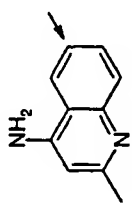
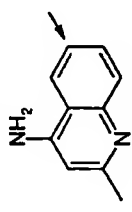
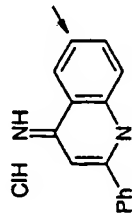
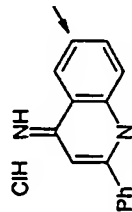
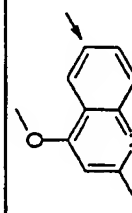
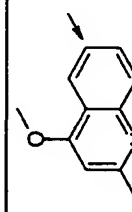
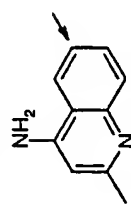
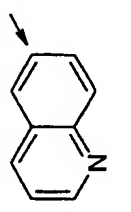
Exemple 20

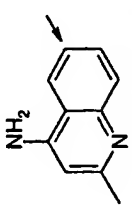
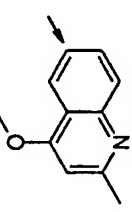
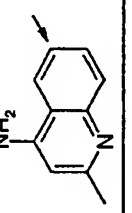
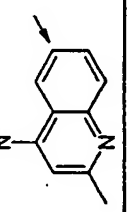
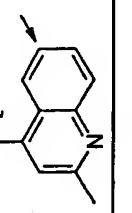
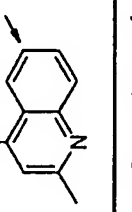
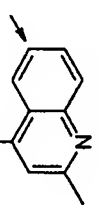
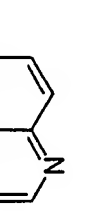
- 10 Les activités G-quartet, antitélomérase et cytotoxique des différents composés exemplifiés sont déterminées selon les protocoles opératoires décrits ci-avant.

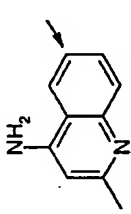
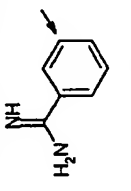
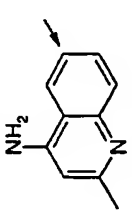
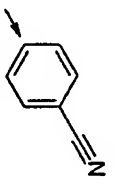
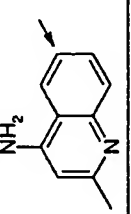
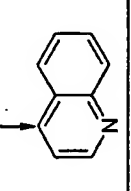
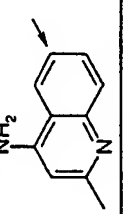
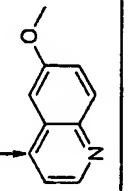
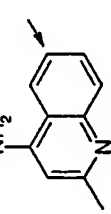
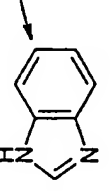
EXEMPLE	FLUORESCENCE T _m (°C)	Télomérase IC ₅₀ (μM)	Cytotox. A549 IC ₅₀ (μM)
1	-	0,25	0,59/1,9*
2	48°	0,056	4,7
3	52°	0,22	-
4	48°	0,51	3,1
5	57°	0,13	0,56/1,8*
6	44°	0,3	1,9
7	55°	0,89	4,9
8	-	0,051	9,1
9	-	0,74	0,53
10	-	0,24	3,6
11	57°	3	5,14
12	70°	0,041	0,44/1,1*
13	-	0,72	-
14	-	1,4/4,9*	6,5
15	53°	0,49	8,7
16	52°	2/4,5*	5,8
17-1	57	0,049	1,6
17-2	-	0,95	6,1
17-3	6	3,9	3,2
18-1	47	3,5	-
18-2	49	2,3	-
18-3	57	0,34	10

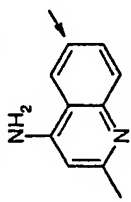
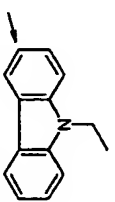
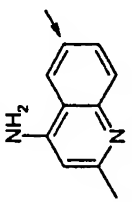
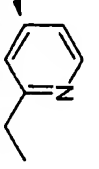
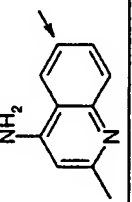
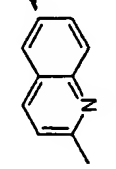
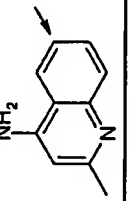
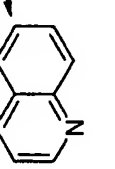
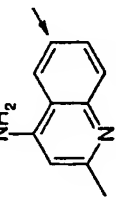
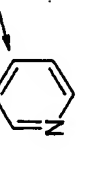
EXEMPLE	FLUORESCENCE T _m (°C)	Téломérase IC ₅₀ (μM)	Cytotox. A549 IC ₅₀ (μM)
18-5	47	3,4	-
18-6	50	2,6	10
18-7	51	3,3	8
18-8	49	3,4	-
18-9	51	3,4	9,5
18-10	49	3,3	10
18-11	48	3,3	1,3
18-12	-	2,8	-
18-13	-	3,4	-
19-1	58	1,0	1,5
19-2	53	2,5	-

* : résultats de deux expériences indépendantes

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amine	Masse M'	Temps de rétention
17-1	SMe		H		H	toluène	24 h./110°	0.5	469	2,95 mn
17-2	SMe		H		H	toluène	48 h./110°	0,75	621	2,21 mn
17-3	SMe		H		H	toluène	24 h./100°	0.5	499	3,02 mn
18-1	SMe		H		Me	dioxane	24 h./100°	0.3	454	2,51 mn

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amline	Masse M [*]	Temps de rétention
18-2	SMe		H		H	dioxane	18 h./100°	0.3	484	2.91 mn
18-3	SMe		H		H	dioxane	24 h./100°	0.3	497	3.07 mn
18-4	SMe		H		H	dioxane	24 h./100°	0.3	468	3.02 mn
18-5	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0.3	440	3.20 mn

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amine	Masse M ⁺	Temps de rétention
18-6	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0,3	431	2,85 mn
18-7	SMe		H		H	DMF	96 h./100°	0,6	414	3,60 mn
18-8	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0,3	440	2,94 mn
18-9	SMe		H		H	dioxane	72 h./100°	0,45	470	3,05 mn
18-10	SMe		H		H	dioxane	72 h./100°	0,45	429	2,84 mn

Exemple	Structures					Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
	A	Ar ₁	R ₃	Ar ₂	R' ₃	Solvant	Chauffage	Nbre de mmols d'amline	Masse M ⁺	Temps de rétention
18-11	SMe		H		H	dioxane	24 h./100°	0,15	506	4,06 mn
18-12	SMe		H		H	dioxane	48 h./100°	0,3	418	2,85 mn
18-13	SMe		H		H	dioxane	72 h./100°	0,45	454	2,94 mn
19-1	N(Et) ₂		H		H	DMF	16 h./120°	0,21	465	1,03 mn
19-2	N(Et) ₂		H		H	DMF	16 h./120°	0,14	415	0,82 mn

REVENDECATIONS

1 - Composés fixant la structure G-quadruplex des télomères caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule générale suivante :

cycle aromatique azoté - NR_3 - répartiteur - NR'_3 - cycle aromatique

5 dans laquelle

- le cycle aromatique azoté, représente :

◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins

- un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou

10

- un groupe alkoxy à chaîne courte en C1-C4 ou

◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

◇ une benzamidine ou

15

◇ une pyridine

- le cycle aromatique représente

◇ une quinoléine éventuellement substituée par au moins

- un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou

20

- un groupe alkoxy à chaîne courte en C1-C4 ou

◇ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

◇ une benzamidine ou

25

◇ une pyridine ou

◇ un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou

plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4 ou

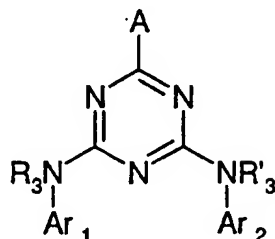
- 5 ♦ un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en
- 10 C1-C4 ou alkénylène en C2-C4
- R3 et R'3, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4
 - le répartiteur représente :
- 15 ♦ un groupe triazine éventuellement substitué par un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, un radical thio, oxy ou amino eux même éventuellement substitués par un ou plusieurs chaînes alkyle à chaîne courte contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un atome
- 20 d'halogène ou
- ♦ un groupe carbonyle ou
- ♦ un groupe C(=NH)-NH-C(=NH) ou
- ♦ un groupe alkylédiyle contenant 3 à 7 atomes de carbone ou
- 25 ♦ un groupe diazine éventuellement substitué par les mêmes groupes que la triazine

ou un de ses sels.

2 - Composés selon la revendication 1 caractérisés en ce que le répartiteur est choisi parmi les groupes triazine ou diazine.

- 30 3 - Composés selon la revendication 2 caractérisés en ce que les groupes diazines sont des pyrimidines.

4 - Composés selon la revendication 1 caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

5

- A représente

- un groupe amino de formule NR_1R_2 dans lequel R_1 et R_2 identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

10

- un groupe OR_1 ou SR_1 dans lequel R_1 a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou ou un groupe trifluorométhyle ou

- un atome d'hydrogène ou

15

- un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R_3 et R'_3 , identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4

- Ar_1 et Ar_2 identiques ou différents représentent

1. quand Ar_1 et Ar_2 sont identiques :

20

- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins

- un groupe $\text{N}(\text{Ra})(\text{Rb})$ dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou

25

- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou

- 5
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - une benzamidine ou
 - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents

- 10
- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
 - Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
- 15
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4
- 20
- * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes
- 25
- alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

ou un de ses sels.

5 - Composés selon la revendication 3 caractérisés en ce que Ar₁ et Ar₂ représentent un groupe choisi parmi les groupes suivants : 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino- quinolyl ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

30

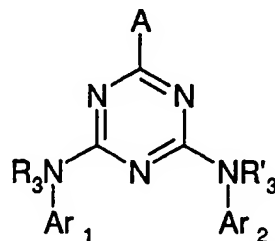
6 - Composés selon la revendication 1 caractérisé en ce que le groupe A représente le radical thiométhyl, amino, alkylamino ou dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4 atomes de carbone.

5 7 - Composés selon la revendication 2 caractérisés en ce que A représente un groupe méthylthio.

8 - Composés de la revendication 1 caractérisés en ce qu'ils ont une activité inhibitrice des télomérases.

10 9 - Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisés en ce qu'ils ont une activité anticancéreuse.

10 - Composés nouveaux répondant à la formule (I) suivante :



dans laquelle :

- A représente

15 • un groupe amino de formule NR₁R₂ dans lequel R₁ et R₂ identiques ou différents représentent un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

• un groupe OR₁ ou SR₁ dans lequel R₁ représente l'hydrogène ou a la même signification que précédemment ou

20 • un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un groupe trifluorométhyle ou

• un atome d'hydrogène ou

• un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R³ et R'³, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4

- Ar₁ et Ar₂ identiques ou différents représentent

1. quand Ar₁ et Ar₂ sont identiques :

- 5
- un motif quinoléine éventuellement substitué par au moins
 - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
- 10
- un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
 - une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
 - une benzamidine sauf dans le cas où A représente la
- 15
- diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine
 - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

2. quand Ar₁ et Ar₂ sont différents

- 20
- Ar₁ et Ar₂ représentent tous les deux l'une des possibilités évoquées ci-dessus pour Ar₁ et Ar₂ ou
 - Ar₁ représente l'une des possibilités ci-dessus et Ar₂ représente
- 25
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, alkoxy en C1-C4, cyano, carbonylamino éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4, guanyl, alkylthio en C1-C4, amino, alkylamino en C1-C4, dialkylamino en C1-C4 pour chaque groupe alkyle, nitro,
- 30
- alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4

- 5 * un noyau hétérocyclique mono ou bi ou tricyclique comportant 0 à 2 hétéroatome par cycle à la condition qu'au moins un hétéroatome soit présent dans au moins un cycle éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

- 10 11 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce quand Ar_1 et Ar_2 sont identiques, Ar_1 et Ar_2 représentent un groupe choisi parmi les groupes 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino- quinolyl ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

- 15 12 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce que R1 et R2 représentent l'hydrogène.

13 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce que A représente un groupe méthylthio.

- 20 14 - Composés selon la revendication 10 caractérisés en ce quand Ar_1 et Ar_2 sont différents

1. Ar_1 représente :

- 25 • un motif quinoléine substitué par au moins
- un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
 - un groupe alkoxy à chaîne courte contenant 1 à 4 atome de carbone ou
- une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

- une benzamidine sauf dans le cas où A représente la diéthylamine, l'hydrogène ou un groupe amine ou
- une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle

5

2. Ar₂ représente

- * un noyau tel que défini ci-dessus mais différent ou
- * un noyau phényle éventuellement substitué par un groupement halogène, méthoxy, cyano, carbonylamino, guanyl, méthylthio, amino, méthylamino, diméthylamino, morpholine, alkylèneamino en C1-C4 ou alkénylèneamino en C2-C4
- * un noyau quinoline, benzimidazole, indole, benzothiophène, benzofurane, benzothiazole, benzoxazole, carbazole, quinazoline, quinoxaline éventuellement substitué par un ou plusieurs groupes alkyle en C1-C4 ou par des groupes alkylène en C1-C4 ou alkénylène en C2-C4

10

15

20

ou un de ses sels à l'exclusion du dichlorhydrate de la 2-amino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyloxy)amino]-triazine et de la 2-amino-bis-4,6-(p-amidino-anilino)-triazine.

15 - Composés selon la revendication 10 choisis parmi :

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinyloxy)amino]-triazine
- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-éthyl-4'-amino-6'-quinaldinyloxy)amino]-triazine
- le dichlorure de 2-diméthylamino-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinyloxy)amino]-triazine
- le trichlorhydrate de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-amino-6'-quinaldinyloxy)amino]-triazine

25

30

- le dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(1'-méthyl-6'-quinoléinio)amino]-triazine
- le trichlorhydrate du dichlorure de 2-méthylamino-bis-4,6-[(4'-méthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- 5 - le chlorhydrate du dichlorure de 2-amino-bis-4,6-[(9'-amino-10'-méthyl-2'-acridinio)amino]-triazine
- le dichlorure de 2-méthylthio-bis-4,6-[(1'-méthyl-4'-amino-6'-quinaldinio)amino]-triazine
- le dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- 10 - l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldiny)amino]-triazine
- le dichlorhydrate de N,N'-(4-amino-6-quinaldiny)urée
- le diodure de N¹,N⁵-bis(7-chloro-1-méthyl-4-quinoléinio)pentane-1,5-diamine
- 15 - le trichlorhydrate pentahydrate de bis-2,4-[(4'-amino-6'-quinaldiny)amino]pyrimidine
- le trichlorhydrate dihydrate de 1,5-(4'-amino-6'-quinaldiny)biguanide
- le 6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-ylamino]-2-méthyl-quinolin-4-ol
- 20 - la N6-[4-(4-diméthylamino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine
- la N6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine
- 25 - la N6-[4-(4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-amine
- la N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(4-diméthylamino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(quinolyl-6-yl-amino)-4-diethylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

5 16 - Composés selon la revendication 15 choisis parmi :

- l'hydrate de 2-méthylthio-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

- le dichlorhydrate dihydrate de 2-chloro-bis-4,6-[(4'-diméthylamino-6'-quinaldinyl)amino]-triazine

10 - le 6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-ylamino]-2-méthyl-quinolin-4-ol

- la N6-[4-(4-diméthylamino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine

15 - la N6-[4-(4-amino-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinolin-4,6-diamine

- la N6-[4-(4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-ylamino)-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-4-méthoxy-2-méthyl-quinolin-6-amine

- la N6-[(6-(4-amino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

20 - la N6-[(6-(4-diméthylamino-quinaldin-6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine

- la N6-[(6-(quinolyl-6-yl-amino)-4-diethylamino-triazin-2-yl)-quinaldine-4,6-diamine

25 17 - Utilisation des composés de la revendication 10 comme produit pharmaceutique à usage humain.

18 - Associations thérapeutiques constituées d'un composé selon la revendication 1 et d'un autre composé anticancéreux.

19 - Associations selon la revendication 18 caractérisées en ce que le composé anticancéreux est choisi parmi les agents alkylants, les dérivés du platine, les agents antibiotiques, les agents antimicrotubules, les anthracyclines, les topoisomérases des groupes I et II, les fluoropyrimidines, 5 les analogues de cytidine, les analogues d'adénosine, les enzymes et composés divers tels que la L-asparaginase, l'hydroxyurée, l'acide trans-rétinoïque, la suramine, l'irinotecan, le topotecan, la dexrazoxane, l'amifostine, l'herceptin ainsi que les hormones oestrogéniques, androgéniques, les agents antivasculaires.

10 20 - Association thérapeutique constituée d'un composé selon la revendication 1 et de radiations.

21 - Associations selon l'une quelconque des revendications 18 à 20 caractérisées en ce que chacun des composés ou des traitements est administré simultanément, séparément ou séquentiellement.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 00/03310

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D403/12 C07D251/18 C07D251/52 C07D251/54 A61K31/53
A61K31/506 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, EPO-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99 40087 A (THE BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 12 August 1999 (1999-08-12) cited in the application page 3, line 15 -page 27 ---	1-21
A	WO 93 20056 A (JARMAN MICHAEL ET AL.) 14 October 1993 (1993-10-14) the whole document ---	1-21
A	DE 198 12 879 A (BAYER AG ET AL.) 30 September 1999 (1999-09-30) the whole document ---	1-21
A	US 5 770 613 A (FEDERICO C. A. GAETA ET AL.) 23 June 1998 (1998-06-23) the whole document --- -/--	1-21

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 March 2001

Date of mailing of the international search report

30/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kyriakakou, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. J. Appl. No.

PCT/FR 00/03310

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 08, 30 June 1999 (1999-06-30) & JP 11 060573 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 2 March 1999 (1999-03-02) abstract	1-21
A	ALFRED KREUTZBERGER ET AL.: "Synthese und spektroskopische Untersuchungen von Dianilino-triazinen" CHEMIKER ZEITUNG, vol. 114, no. 6, 1990, pages 208-210, XP002143260 the whole document	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/03310

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9940087 A	12-08-1999	AU 2494799 A EP 1053237 A US 6156763 A	23-08-1999 22-11-2000 05-12-2000
WO 9320056 A	14-10-1993	AT 168105 T AU 676677 B AU 3894293 A DE 69319590 D DE 69319590 T DK 632805 T EP 0632805 A ES 2118945 T JP 7505380 T US 5534625 A US 5854244 A	15-07-1998 20-03-1997 08-11-1993 13-08-1998 12-11-1998 19-04-1999 11-01-1995 01-10-1998 15-06-1995 09-07-1996 29-12-1998
DE 19812879 A	30-09-1999	AU 2932899 A WO 9948877 A EP 1064271 A	18-10-1999 30-09-1999 03-01-2001
US 5770613 A	23-06-1998	NONE	
JP 11060573 A	02-03-1999	NONE	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De l'Office International No
PCT/FR 00/03310

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C07D403/12 C07D251/18 C07D251/52 C07D251/54 A61K31/53
A61K31/506 A61P35/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07D

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

CHEM ABS Data, EPO-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 99 40087 A (THE BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 12 août 1999 (1999-08-12) cité dans la demande page 3, ligne 15 -page 27 ---	1-21
A	WO 93 20056 A (JARMAN MICHAEL ET AL.) 14 octobre 1993 (1993-10-14) le document en entier ---	1-21
A	DE 198 12 879 A (BAYER AG ET AL.) 30 septembre 1999 (1999-09-30) le document en entier ---	1-21
A	US 5 770 613 A (FEDERICO C. A. GAETA ET AL.) 23 juin 1998 (1998-06-23) le document en entier ---	1-21
	-/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

E document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

L document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

O document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

P document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

22 mars 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

30/03/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Kyriakakou, G

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der. e Internationale No

PCT/FR 00/03310

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 08, 30 juin 1999 (1999-06-30) & JP 11 060573 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 2 mars 1999 (1999-03-02) abrégé	1-21
A	ALFRED KREUTZBERGER ET AL.: "Synthese und spektroskopische Untersuchungen von Dianilino-triazinen" CHEMIKER ZEITUNG, vol. 114, no. 6, 1990, pages 208-210, XP002143260 le document en entier	1-21

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De: Je Internationale No

PCT/FR 00/03310

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9940087 A	12-08-1999	AU 2494799 A EP 1053237 A US 6156763 A	23-08-1999 22-11-2000 05-12-2000
WO 9320056 A	14-10-1993	AT 168105 T AU 676677 B AU 3894293 A DE 69319590 D DE 69319590 T DK 632805 T EP 0632805 A ES 2118945 T JP 7505380 T US 5534625 A US 5854244 A	15-07-1998 20-03-1997 08-11-1993 13-08-1998 12-11-1998 19-04-1999 11-01-1995 01-10-1998 15-06-1995 09-07-1996 29-12-1998
DE 19812879 A	30-09-1999	AU 2932899 A WO 9948877 A EP 1064271 A	18-10-1999 30-09-1999 03-01-2001
US 5770613 A	23-06-1998	AUCUN	
JP 11060573 A	02-03-1999	AUCUN	